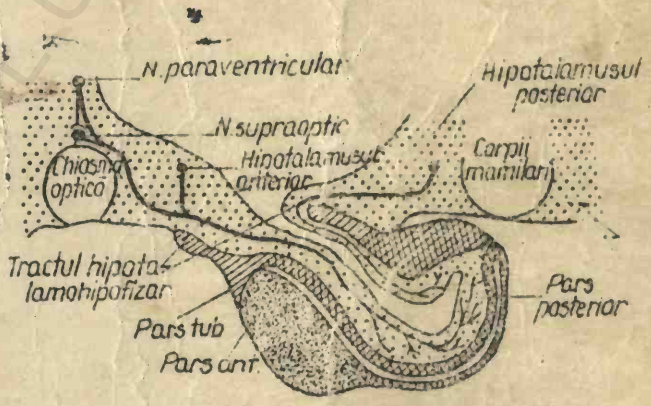
UNIVERSITATEA „AL. I. CUZA" IAȘI

FACULTATEA DE BIOLOGIE-GEOGRAFIE

Lector dr. VASILE P. HEFCO

FIZIOLOGIE EXPERIMENTALĂ:

RESPIRATIA, DIGESTIA, METABOLISMUL, EXCRETIA, SISTEMUL ENDOCRIN



IASI UNIVERSITY LIBRARY

CUPRINS

CAPITOLUL I Pag.

RESPIRATIA.....1
1.PNEUMOGRAFIA.....2
2.MECANICA RESPIRATIEI LA MAMIFERE.EXPERIENTA LUI DONDERS PENTRU DEMONSTRAREA ROLULUI DIAFRAGMEI.....3
3.AUSCULTATIA PLAMINILOR.....5
4.VOLUMELE SI CAPACITATILE RESPIRATORII.SPIROMETRIA.....6
5.DETERMINAREA BIOXIDULUI DE CARBON DIN AERUL EXPIRAT.....10
6.INFLUENTAREA REFLEXA A RESPIRATIEI.....12
7.REGLAREA RESPIRATIEI PE CALEA UMORALA.....14

CAPITOLUL II

DIGESTIA

9.DIGESTIA IN CAVITATEA BUCALA.....16
A.Recoltarea salivei.....16
B.Compozitia chimică a salivei.....17
C.Rolul salivei în digestie.....19
1.Determinarea concentraţiei amilazei salivare.....20
2.Efectul pH-ului asupra activităţii amilazei.....20
3.Efectul temperaturii asupra activităţii amilazei.....21
10.COMPOZITIA SI ACTIUNEA DIGESTIVA A SUCULUI GASTRIC.....21
A.Obţinerea sucului gastric.....22
B.Dozarea acidităţii sucului gastric.....22
C.Rolul pepsinei în digestie.....24
D.Evidenţierea produşilor de digestie pepsică.....25
11.COMPOZITIA LAPTELUI.....26
1.Evidenţierea proteinelor,lactozei,anionilor şi cationilor26
2.Coagularea laptelui.....27
12.DIGESTIA IN INTESTINUL SUBTIRE.....28
A.Sucul pancreatic.....28
13.BILA SI ROLUL EI.....30
14.DISTRIBUTIA ENZIMELOR DIGESTIVE LA NEVERTEBRATE.....33
15.ACTIVITATEA MOTORIE A TUBULUI DIGESTIV.
A.Inregistrarea contractiilor de foame ale stomacului
B.Inregistrarea motilităţii intestinului subţire

16.OBSERVAREA EXCRETIEI UNOR COLORANTI PRIN MUCOASA GASTRICA...37
17.STUDIUL MECANISMULUI DE ABSORBTIE AL DIFERITELOR SOLUTII IN EXPERIMENT ACUT-EXPERIENTA LUI HEIDENHAIN.....38
18.TRANSPORTUL ACTIV AL GLUCOZEI LA NIVELUL INTESTINULUI.....39
19.DETERMINAREA VITEZEI DE ABSORBTIE A UNOR SUBSTANTE LA CM...42
20.UNELE OPERATII PE TUBUL DIGESTIV.
1.Fistulă salivară cronică la cîine(după Pavlov).....42
2.Fistulă gastrică la cîine (după Basov).....45

CAPITOLUL III

METABOLISM SI ALIMENTATIE

21.METABOLISMUL BAZAL.....47
22.DETERMINAREA METABOLISMULUI ENERGETIC LA ANIMALE. (METODA ANALIZEI COMPLETE A GAZELOR).....51
23.INFLUENTA TEMPERATURII MEDIULUI AMBIANT ASUPRA METABOLISMULUI LA ANIMALE POIKILOTERME SI HOMEOTERME.....55
24.ALCATUIREA RATIILOR ALIMENTARE.....56

CAPITOLUL IV

EXCRETIA

25.CLEARANCE-UL INULINEI CA MASURA A RATEI DE FILTRARE GLOMERULARA.....58
26.STUDIUL EXCRETIEI URINEI IN EXPERIMENT CRONIC.....60
27.VACUOLELE CONTRACTILE.....62
28.COMPOZITIA URINEI.
A.Densitatea urinei.....64
B.Sodiul si potasiul.....64
C.Clorul.Metoda Mohr.....65
D.Dozarea fosfaţilor.....65
E.Dozarea ureei cu hipobromit.....66
F.Proteinele.....67
G.Glucidele urinare.....68

CAPITOLUL V

FIZIOLOGIA SISTEMULUI ENDOCRIN

29.SUPRARENALECTOMIA LA SOBOLAN.....72
30.TESTUL THORN.....74
31.DETERMINAREA PRODUCTIEI IN VITRO A GLUCOCORTICOIZILOR.....75
32.TIROIDECTOMIA LA SOBOLAN.....77

33.DIABETUL ALLOXANIC.....78
34.TESTUL DE TOLERANTA LA GLUCOZA.....79
35.TESTUL DE TOLERANTA LA INSULINA.....81
36.CASTRAREA SOBOLANILOR MASCULI.....82
37.OVARIECTOMIA LA SOBOLAN.....83
38.STABILIREA CICLULUI ESTRAL LA SOBOLAN.....85
39.HIPOFIZECTOMIA LA BROASCA.....87
40.DIAGNOSTICUL PRECOCE DE SARCINA.PROBA GALLI-MAININI.....88
41.DOZAREA VASOPRESINEI.....90
ANEXE.....93
BIBLIOGRAFIE

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CAPITOLUL I

RESPIRATIA

Respiraţia constă din totalitatea proceselor, care privesc transportul oxigenului din atmosferă la ţesuturi şi a bioxidului de carbon, rezultat din oxidările celulare, în sens invers.Procesul respirator poate fi divizat în patru etape majore: 1- ventilaţia pulmonară, care se ocupă de studiul mecanismelor ce asigură primenirea aerului la nivelul alveolelor pulmonare ; 2-difuzia O_2 şi a CO_2 la nivelul alveolelor pulmonare şi a capilarelor sanguine; 3-transportul O_2 şi a CO_2 prin sînge şi lichide biologice; 4-reglarea ventilaţiei.Procesele de oxidare tisulară sînt denumite uneori respiraţie tisulară.Ele se realizează prin activitatea unui sistem fermentativ complex.

Mişcările respiratorii constituie forma cea mai accesibilă de explorare a activităţii sistemului respirator, motiv pentru care studiul caracteristicilor sale, asociat cu cercetarea volumelor şi a compoziţiei aerului inspirator şi expirator, prezintă o importanţă deosebită pentru aprecierea funcţională a respiraţiei.

Reglarea mişcărilor respiratorii se realizează de către centrul respirator.Sistemele neuronale care intră în alcătuirea lui, localizate în formaţiunea reticulata bulbară, prezintă proprietăţi de automatism şi se află sub controlul unor centrii dispuşi la diverse nivele ale encefalului, inclusiv scoarţa cerebrală. Adaptarea continuă a respiraţiei la schimbările survenite în mediul extern sau intern, se realizează prin influenţele nervoase şi umorale, exercitate asupra centrului respirator.Impulsurile aferente, ce duc la modificarea reflexă a respiraţiei, îşi au originea atît la nivelul receptorilor pulmonari şi a muşchilor intercostali, cît şi la nivelul altor receptori ai organismului.

Factorii umorali pot acţiona atît direct asupra structurilor chimioreceptoare din centrul respirator, cît şi reflex avînd ca punct de plecare chimioreceptorii zonelor reflexogene de pe traiectul aparatului circulator.Influenţă cea mai mare asupra respiraţiei, o exercită excesul de CO_2 şi deficitul de O_2.

Impulsurile eferente de la nivelul centrului respirator, ajung la nivelul motoneuronilor din coarnele anterioare ale măduvei spinării, de unde pleacă comenzile spre musculatura respiratorie.

Particularităţile sistemului respirator, reliefate mai sus, determină caracterul şi varietatea metodelor folosite în cercetarea funcţiei sale.

1. PNEUMOGRAFIA

Inregistrarea grafică a variaţiilor perimetrului cutiei toracice, care are loc în timpul fazelor actului respirator, poartă denumirea de pneumogramă. Ea permite studierea duratei celor două faze ale actului respirator-inspiraţia şi expiraţia- a frecvenţei respiratorii cît şi adaptarea respiraţiei la diverse situaţii (citit, rîs, efort etc.).

Echipament necesar: pneumograf, capsula Marey, kimograf, cronograf.

Tennica: se aşează pneumografui (Fig.1) pe cutia toracică (la bărbat la nivelul apendicelui xifoid, iar la femeie-deasupra mamelelor) şi se fixează cu barete inextensibile. Se face legătura pneumografului cu capsula înscriitoare Marey cu ajutorul unui tub de cauciuc. In felul acesta se creează un sistem închis de aer. Variaţiile de presiune din interiorul acestui sistem, determinate de expansiunile respiratorii ale cutiei toracice, se înregistrează pe kimograf cu ajutorul capsulei Marey (Fig.2).

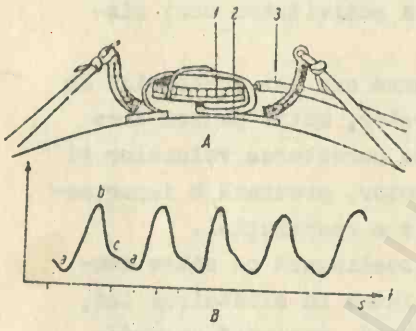


Fig.1. A-pneumograf tip Marey aplicat pe cutia toracică. 1-capsula elastică; 2-sistem de pîrghii; 3-tub de legătură cu capsula înregistratoare. B-pneumograma normală. ab-inspiraţie; bc-prima fază a expiraţiei; ca-a doua faza a expiraţiei.

In loc de pneumograf drept capsulă exploratoare, care se aşează pe torace, poate servi şi mansheta de cauciuc de la sfigmomanometru (Fig. 2)

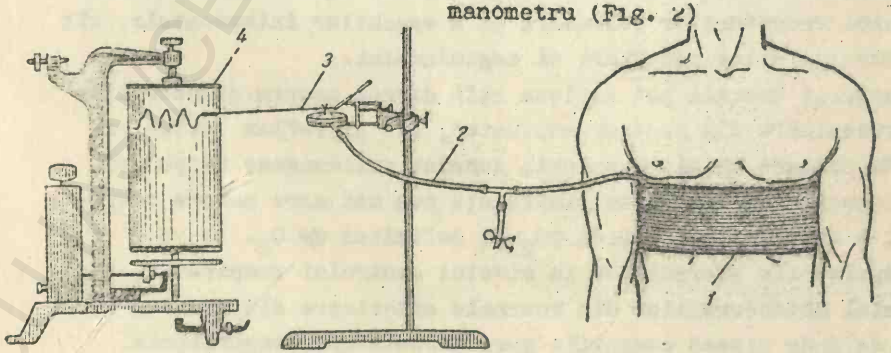


Fig.2. Schema înregistrării grafice a pneumogramei. 1-manşeta de cauciuc; 2-tub de cauciuc; 3-capsula Marey; 4-kimograf.

In acest caz după fixarea manşetei în jurul cutiei toracice şi racordarea ei la capsula înscriitoare Marey, se sufla prin tubul cu trei căi o cantitate oarecare de aer în sistemul închis, după care se presează cu o clemă tubul de cauciuc al tubului cu trei căi. După ce ne-am convins că peniţa înscriitoare se deplasează cu o amplitudine suficientă şi sincron cu actul respirator, apropiem peniţa de kimograf. Subiectul supus experimentării, stă cu spatele spre kimograf. Suo pneumograma se înscrie timpul cu ajutorul cronografului.

Se va înregistra timp de 2-3 minute cîte o pneumograma în respiraţie liniştită şi se va calcula frecvenţa respiratorie. Întrerupem comunicarea pneumografului cu peniţa înscriitoare cu ajutorul unei pense şi supunem subiectul unui efort fizic (25 flotări) după care înregistram pneumograma şi calculam frecvenţa respiratorie. După revenirea la normal a ritmului respirator, înregistram o pneumograma în timpul cititului, rîsului şi a reţinerii maxime a respiraţiei. Spre sfîrşitul experimentului supunem subiectul unei hiperventilaţii pulmonare prin executarea a 30 acte respiratorii profunde şi frecvente, după care înregistram pneumograma.

Recomandări: 1-pe graficele obţinute se va marca faza inspiratorie şi expiratorie. 2-Se va calcula frecvenţa şi amplitudinea respiratorie în condiţii normale şi experimentale. 3-Se va analiza caracterul modificărilor respiratorii sub acţiunea factorilor studiaţi.

Întrebări de control: Care este frecvenţa respiratorie la om? Care este mecanismul fiziologic al modificărilor respiratorii, înregistrate după reţinerea maxima a respiraţiei şi respectiv după hiperventilaţia pulmonară?

2. MECANICA RESPIRAŢIEI LA MAMIFERE.
EXPERIENŢA LUI DONDERS PENTRU DEMONSTRAREA ROLULUI DIAFRAGMEI.

Pătrunderea aerului în plămîni şi eliminarea lui depind în întregime de modificările capacităţii cavităţii toracice. Plămînii joacă un rol pur pasiv. Aerul este aspirat înauntru şi împins afară, în concordanţa cu diferenţele de presiune dintre atmosferă şi aerul din plămîni, provocate de expansiunea sau contracţia cutiei toracice. Modificările dimensiunilor cutiei toracice se realizează prin intervenţia muşchilor respiratori. Plămînii urmează întocmai modi-

ficările cutiei toracice pe de o parte datorită presiunii negative interpleurale, valoarea căreia creşte tot mai mult odată cu mărirea cutiei toracice,iar pe de altă parte, datorită elasticităţii lor, care permite plămînilor să urmeze în mod pasiv pereţii toracelui. Rolul muşchiului diafragm în respiraţie poate fi demonstrat prin experienţa lui Donders, folosind modelul Donders al cutiei toracice de mamifere (Fig.3).

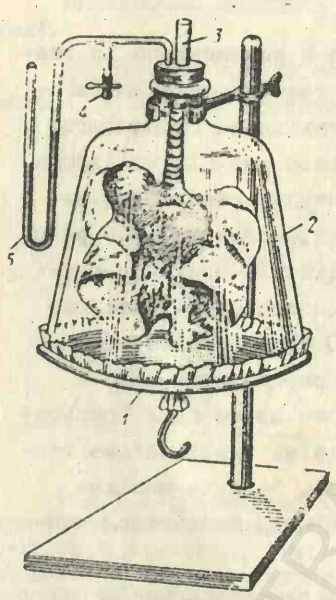


Fig.3.Model de cutie toracică.1-membrana de cauciuc elastică; 2-clopot de sticlă; 3-tub de sticlă legat de trahee; 4-supapă de aspirat aer; 5-manometru.

Echipament necesar:un clopot de sticlă de forma celui din Fig.3; o membrană de cauciuc ; manometru cu mercur; tub de sticlă cu trei canale ; dop de cauciuc; tub de sticlă simplu ; stativ; cleme; plămîni de iepure sau pisică.

Mod de lucru:Se prepară din timp modelul cutiei toracice.El se prezintă sub forma unui clopot de sticlă,fundul căruia este prevăzut cu o membrană elastica , strîns legată în jurul clopotului. Introducem în clopot plămînii, în traheea cărora fixăm un tub de sticlă sau metalic, prin care plămînii comunică cu exteriorul.Tubul de sticlă îl introducem prin orificiul făcut în dop , care închide ermetic gura clopotului.Prin cel de al doilea orificiu făcut în dop, trecem tubul în formă de T, care comunică cu manometru.In acest model de cuşcă toracică pereţii clopotului modelează pereţii cutiei toracice, membrana de cauciuc - muşchiul diafragm , iar modificarea presiunii din spaţiul cuprins între pereţii clopotului şi plămîni, imită modificarea presiunii interpleurale.Trebuie să reţinem că în condiţiile normale, în jurul plămînilor nu se află aer.

Folosind acest model se vor efectua următoarele observaţii:

1-Folosindu-ne de tubul în formă de T , se absoarbe o cantitate de aer din clopot, după care închidem tubul cu o clemă.Se vaobserva cum plămînii se destind într-o oarecare măsură, diafragma se

bombează spre interior, iar presiunea din cavitatea clopotului devine negativă (indicaţia manometrului).In felul acesta se imită prezenţa presiunii negative în spaţiul interpleural.

2-Prin coborîrea şi ridicarea membranei de cauciuc- diafragmul- imităm modificările " presiunii interpleurale" care au loc în timpul inspiraţiei şi expiraţiei.Prin coborîrea " diafragmei" (inspiraţie) presiunea negativă din " spaţiul interpleural" creşte iar plămînii se umflă.Prin ridicarea " diafragmei" are loc un proces invers.

3-Deschidem comunicarea tubului T cu atmosfera:aerul patrunde în " spaţiul interpleural", presiunea devine egală cu cea atmosferică, iar plămînii se colabează.In felul acesta se imită pneumotoraxul-introducerea aerului în spaţiul interpleural.

Aceeaşi experienţă se poate realiza şi cu dispozitive mai simple (Fig.4.) în care modificarea presiunii interpleurale o realizăm cu seringa atunci cînd folosim vase cu tubulura laterală (Fig 4a), sau prin mişcarea membranei de cauciuc (Fig.4b,c).

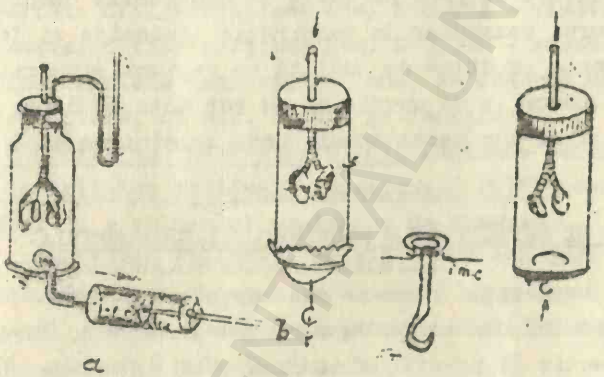


Fig.4.Dispozitive mai simple pentru plămînii de cobai.Explicaţia în text.

Intrebări de control: Care este rolul muşchiului diafragm? Cine coordonează activitatea lui?Cum se modifică volumul cutiei toracice în timpul actului respirator?Care sînt muşchi care participă în inspiraţia şi expiraţia liniştită şi forţată?

3.AUSCULTATIA PLAMINILOR.

Deplasarea aerului în arborele respirator dă naştere la zgomote respiratorii, pe care le putem auzi, fie aplicînd urechea direct pe cutia toracică (punînd un cîmp de ascultaţie), fie cu stetoscopul.

Trecerea turbulentă a aerului prin orificiul laringian, în inspiraţie, produce un suflu (suflu tubar).El poate fi reprodus dacă

în respiraţie se pronunţă sunetul " h".La subiecţi sănătoşi acest sunet se aude la nivelul traheei, laringelui şi uneori deasupra omoplaţilor.In cazuri patologice, prin densificarea plămînilor (infiltraţii pulmonare în tuberculoză, pneumonie,etc) sunetul poate fi auzit şi în alte regiuni ale plămînilor.

In zona de expansiune maximă a plămînilor, în regiunea sinusurilor costodiafragmatice şi mai puţin la vîrfurile plămînilor, se produce murmurul vezicular, care aminteşte de sunetul " f ".

Echipament necesar:stetoscop.

Mod de lucru: Pentru ascultarea suflului tubar, stetoscopul se aplică pe trahee şi se notează fazele respiraţiei în care el este perceput.Ascultînd plămînul pe toata suprafaţa cutiei toracice, se determină şi se notează pe schema cutiei toracice în caiet, locurile în care se aude suflul tubar.

Murmurul vezicular se ascultă cu stetoscopul în oricare regiune a cutiei toracice, cel mai bine la 5-7 cm mai jos de groapa axilară.Această ascultare se face pe spate la unghiurile omoplaţilor, comparînd murmurul vezicular în respiraţia liniştită şi în cea profundă.Fenomenele acustice se asculta pe regiuni simetrice ale cutiei toracice.Locurile de ascultare se vor nota pe caiet (pe schema plămînilor) şi se vor marca zonele unde sunetul se aude distinct.

9.VOLUMELE SI CAPACITATILE RESPIRATORII.SPIROMETRIA.

In timpul unei respiraţii normale sau forţate, se introduc şi se expulzează din plămîni cantităţi de aer caracteristice, care din punct de vedere didactic şi practic sînt împărţite în volume si capacităţi.Volumele reprezintă cantităţi de aer din anumite momente ale ciclului respirator, iar capacităţile sînt combinaţii de volume.

Volumul curent(aer curent sau aer respirator)(AC) este cantitatea de aer (aproximativ 500 ml), care este inspirată sau expirată în timpul unui act respirator normal.

După o inspiraţie normală se mai poate inspira forţat o cantitate de aer egală cu aproximativ 3000 ml, care poartă denumirea de aer complementar sau volum inspirator de rezervă (VIR).

După o expiraţie normală se mai poate elimina forţat aproximativ 1100 ml aer, denumit volum expirator de rezervă(VER).

După expirarea VER în plămîni mai rămîne un volum de aproximativ 1200 ml aer, denumit volum rezidual (VR) sau aer rezidual.Prin deschiderea spaţiului pleural, se produce un pneumotorax, plămînul se retractă în jurul hilului şi expulzează o cantitate de aer, denumită volum de colaps. Ceea ce mai rămîne în plămîni constituie volumul minimal.Ambele sînt fracţiuni ale volumului rezidual.Determinarea aerului minimal prezintă importanţă pentru medicina legală. Un ţesut pulmonar, care conţine aer minimal, plutegte la suprafaţa apei (proba docimaziei pozitivă).Plămînul unui nou-născut, care nu a respirat niciodată, nu conţine aer minimal.In acest caz proba docimazici este negativă (plămînul nu plutegte).

Capacităţi respiratorii.

Capacitatea vitală cuprinde volumele expirate forţat, după o inspiraţie maximă.Ea rezultă din suma volumului inspirator de rezervă, volumul respirator curent şi volumul expirator de rezervă.Mărimea capacităţii vitale (CV) poate fi calculată cu ajutorul formulelor:bărbat: CV(l)=înălţimea (cm) X 0,052 - vîrsta X 0,022- 3,60

femeie: CV(l)=înălţimea (cm) X 0,041 - vîrsta X 0,018-2,68

Din formulele indicate mai sus, se observă că CV depinde, printre altele, de sex, vîrstă şi înălţime.

Capacitatea inspiratorie (CI) cuprinde aerul curent şi VIR.

Capacitatea reziduală funcţională (CRF) este suma volumului rezidual şi a volumului expirator de rezervă.

Capacitatea pulmonară totală (CPT) cuprinde toate volumele menţionate, fiind cantitatea de aer care se gaseşte în plămîni la sfîrşitul unei inspiraţii forţate.Volumele şi capacităţile respiratorii sînt indicate în Fig. 5.

Cu excepţia volumului rezidual, toate celelalte volume şi capacităţi se măsoară cu ajutorul spirometrului.

Echipament necesar:spirometru,pensă nazală, alcool, vată.

Spirometrul se compune din două vase cilindrice:unul extern în care se toarnă apă şi altul intern , care intră cu uşurinţă în spaţiul cu apă al cilindrului extern. Cilindrul intern este aşezat cu fundul în sus şi la unele tipuri de spirometre este echilibrat cu contragreutăţi (Fig.6 B) peste un scripete.Spaţiul de sub fundul cilindrului mobil (C Fig.6 B) este în legătură cu exteriorul cu ajutorul unui tub metalic (t), de care se ataşează la partea externă un tub de cauciuc terminat cu o piesă de

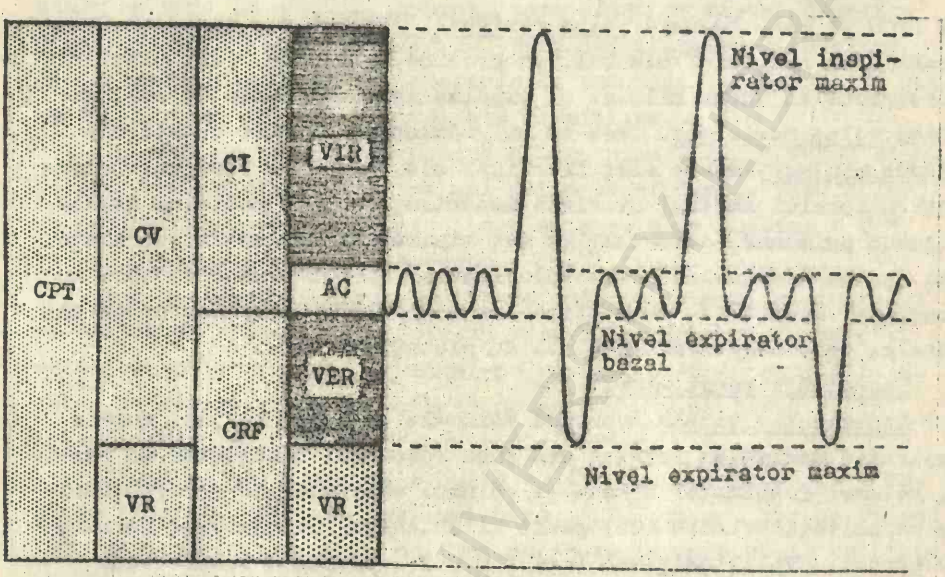


Fig.5.Subdiviziunile capacităţii pulmonare totale.Explicaţia în text.

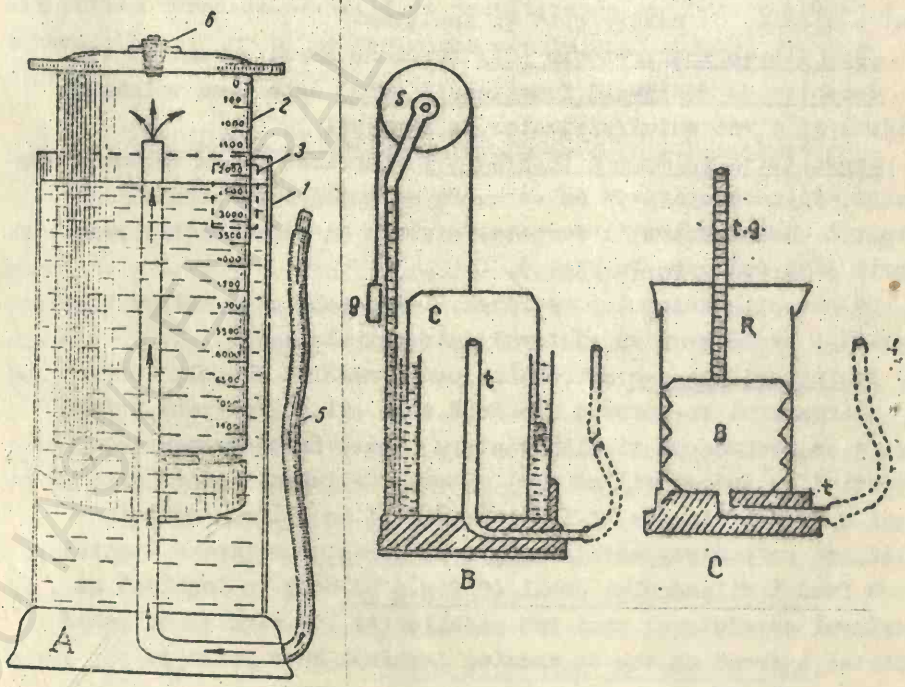


Fig.6.Tipuri de spirometre cu apă (A,B) sau uscat (C).

BIBLIOTECA DE BIOLOGIE

sticla.Pe cilindrul superior este fixata o rigla gradata în unităţi de volum (2,Fig.6), care permite citirea volumului de aer introdus în spirometru.

Exista şi spirometre uscate (C Fig 6) formate dintr-un burduf (B) de pînză cauciucată, aşezat într-un recipient metalic (R). Burduful la partea superioară, are fixată o tijă gradată (t.g.), care se poate deplasa în sens vertical, iar partea inferioară comunică printr-un tub (t) cu exteriorul.Destinderea burdufului, produsă de aerul expirat, determină ridicarea tijei gradate, care indică volumul de aer introdus.

Tehnica:Se dezinfectează muştiucul de sticlă cu un tampon de vată îmbibat în alcool şi se pune spirometrul în poziţia zero.

Determinarea capacităţii vitale.Persoana examinată stă liniştită în faţa spirometrului, face o inspiraţie cît mai profundă posibil, după care expiră forţat în spirometru, nasul fiind comprimat cu mîna sau cu o pensă nazală.Proba se repetă de trei ori la intervale de cîteva minute şi se notează valoarea maxima indicată de spirometru.

Determinarea volumului curent.Persoana examinată execută cîteva (5-6) expiraţii normale în spirometru.După fiecare expiraţie se comprimă tubul de cauciuc pentru a evita ieşirea aerului de sub clopotul spirometrului.Volumul final indicat de spirometru, se împarte la numarul de expiraţii şi se află valoarea medie a volumului curent.

Determinarea volumului inspirator de rezervă.Se ventilează spirometrul, prin ridicarea şi coborîrea de cîteva ori a clopotului său, după care se ridică clopotul la un nivel oarecare, de exemplu 4000 ml.Se face o inspiraţie liniştită din atmosferă, după care se continuă inspiraţia profundă din spirometru.Diferenţa dintre indicaţia iniţială şi cea finală, citită pe rigla gradată a spirometrului, reprezintă volumul inspirator de rezerva.

Determinarea volumului expirator de rezervă.Se expiră normal în atmosferă după care continuăm să expirăm forţat în spirometru, notînd valoarea indicată de scara gradată.

Determinarea volumului rezidual. Se bazează pe analiza concentraţiei unor gaze, care nu participă în respiraţie (azot,heliu, hidrogen).Astfel în cazul hidrogenului, se introduce în spirometru 500 ml H_2.Persoana examinată face ultima expiraţie normală în atmosferă, după care începe să respire din spirometru (nasul fiind

comprimat cu clemă).După 7-8 mişcări respiratorii complete, hidrogenul se distribuie uniform în sistemul închis de aer, care se întinde de la clopotul spirometrului pînă la alveola pulmonară. Final se determină diluţia hidrogenului (concentraţia lui).Cunoscînd cantitatea totală de hidrogen (500 ml) şi concentraţia lui finală (de exemplu 10%) se poate afla volumul de aer în care a fo diluat hidrogenul respectiv.Din volumul rezultat din calcul se sca de volumul aerului expirator de rezervă, determinat spirometric, iar diferenţa ne indică volumul rezidual.

Recomandări: valorile obţinute pentru volumele şi capacităţile funcţionale, se vor nota sub forma unui tabel.Se va compara volumul capacităţii vitale, obţinut prin măsurătoarea directă, cu cel rezultat din calcul.

Întrebări de control: Care sînt volumele şi capacităţile pulmonare? Ce se înţelege prin capacitatea vitală pulmonară? Care sînt factorii care o influenţează?

5. DETERMINAREA BIOXIDULUI DE CARBON DIN AERUL EXPIRAT

Aerul expirat reprezintă o combinaţie a aerului spaţiului mor şi a aerului alveolar, compoziţia lui globală fiind determinată în primul rînd de proporţia aerului expirat din spaţiul mort şi din aerul alveolar; în al doilea rînd de concentraţia gazelor din aerul spaţiului mort; şi în al treilea rînd,de concentraţia gazelor din aerul alveolar.Dacă se face o analiză continuă a gazelor expirate, se constată că volumul iniţial de aer expirat, care provine din spaţiul mort, prezintă o compoziţie a unui aer umezit.După aceasta are loc o amestecare tot mai mare a aerului din spaţiu mort cu aerul alveolar, pînă cînd tot aerul din spaţiul mort a fost spălat de aerul alveolar, rămînînd în cele din urmă numai aer alveolar.Aerul expirat normal prezintă o concentraţie intermediară între aerul atmosferic umectat şi aerul alveolar, fiind format în condiţii bazale din aproximativ 1/3 aer din spaţiu mort şi 2/3 din aer alveolar.

Există diferite metode pentru măsurarea compoziţiei amestecului gazos (metoda Haldane,metoda Scholander, analizatorul de O_2 Pauling, analizatorul de CO_2 în infraroşu,analizatorul de H_2, analizatorul de N_2,cromatografia în gaz,metoda polarografică, aparatul Van Slyke etc.).

Descriem mai jos o metodă simplă de măsurare a CO_2 din aerul expirat.

Echipament necesar: Eudiometru; soluţie saturată de $Ba(OH)_2$; H_2SO_4 N/10; indicator (metiloranj); pipete; centrifuga; vase pentru titrare; eprubete de centrifuga.

Principiu: Se determină iniţial cantitatea de H_2SO_4 N/10, necesară pentru neutralizarea unui anumit volum de $Ba(OH)_2$ (10 ml) după care se barboteaza un volum cunoscut de aer expirat în $Ba(OH)_2$. CO_2 este fixat de $Ba(OH)_2$ iar excesul de hidroxid, care nu a fost neutralizat de CO_2, se titrează cu H_2SO_4 N/10. Pe baza echivalentului dintre H_2SO_4 şi CO_2 se află cantitatea de CO_2 în grame, care se transformă în volume, cunoscînd că o molecula gram de gaz ocupă la temperatura de 0^oC şi presiunea de 760 mmHg, un volum de 22.400ml. Volumul gazului la temperatura dată se calculează după formula: $V_t = V_0(1+\alpha t)$, în care V=volumul gazului; t=temperatura iar $\alpha = 1/273$.

Mod de lucru: Într-un pahar Berzelius se pun 10 ml $Ba(OH)_2$ necarbonatat, care se titrează cu H_2SO_4 N/10 în prezenţa indicatorului (1-2 picături metilorange). Virajul culorii indicatorului din galben-pai în roz, indică sfîrşitul reacţiei. Se notează volumul de H_2SO_4 N/10 folosit la titrare.

Colectarea pentru analiza a aerului expirat. Aerul de analiză se poate colecta, printre altele, în eudiometru. Eudiometru reprezintă un sistem de vase comunicante, din care unul din ramuri este gradat. La partea libera a tubului gradat se ataşează un tub de sticlă prin intermediul unui tub de cauciuc prevăzut cu o clemă. Se umple eudiometru cu apă acidulată pînă la 1/2 din volumul său, după care prin ridicarea ramului negradat al eudiometrului, dizlocăm tot aerul din tubul sau gradat. Închidem clema pentru a evita pătrunderea aerului. Persoana examinată face o expiraţie în atmosferă, pentru a înlătura aerul de pe spaţiul anatomic mort, după care, punînd tubul de sticlă în gura şi deschizînd clema, continuă să expire forţat în eudiometru. Spre sfîrşitul expiraţiei, strîngem tubul de cauciuc cu clemă. Notăm volumul de aer colectat.

Analiza CO_2 din aerul expirat. Într-un pahar Berzelius se pun 20 ml $Ba(OH)_2$, prin care barbotăm foarte încet, volumul de aer colectat pentru analiza. CO_2 se fixează pe $Ba(OH)_2$ conform reacţiei:

T.P.
C.C.

$Ba(OH)_2 + CO_2 = CO_3Ba + H_2O$. Se separă carbonatul de bariu prin centrifugare, iar din supernatantul limpede se iau 10 ml şi se determină concentraţia rezultată a $Ba(OH)_2$. Titrarea se face cu H_2SO_4 N/10 ca şi în primul caz. Se notează volumul de acid sulfuric folosit la titrare. Diferenţa volumului de acid sulfuric folosită în cele 2 titrări a $Ba(OH)_2$ înmulţită cu 2 (de ce?) este dată de cantitatea de CO_2 care s-a aflat în volumul colectat de aer expirat.

Calculul CO_2 se face pe baza următorului raţionament: reacţiile merg de la echivalent la echivalent. Ecnivalentul H_2SO_4 este de 49,038 g iar a CO_2-22,005 g. 1ml H_2SO_4 N/10 conţine 0,0049 g H_2SO_4 Să presupunem că diferenţa dintre cele 2 titrări a $Ba(OH)_2$ înmulţită cu 2 a fost de 8 ml H_2SO_4 N/10, ceea ce corespunde la 0,0432 g H_2SO_4 şi respectiv 0,0194 g CO_2, rezultat din următorul calcul:

49 g H_2SO_4 corespunde la 22 g CO_2

0,0432 g H_2SO_4.....X

$$X = \frac{0,0432 \times 22}{49} = 0,019 \text{ g } CO_2$$

Transformarea CO_2 din grame în volum, se face pe baza următorului raţionament:

44,01 g CO_2 ocupă un volum de 22.400 ml

0,0194 g CO_2 X

$$X = \frac{0,0194 \times 22.400}{44,01} = 9,87 \text{ ml } CO_2$$

Dacă volumul de aer expirat, colectat în eudiometru a fost de 200 ml, procentul de CO_2 a fost de:

200 ml aer conţineau 9,87 ml CO_2

100 ml X

X=4,93 % CO_2

Recomandări: Se va calcula procentul de CO_2 din aerul expirat.

Intrebari de control? Care este compoziţia aerului expirat şi a aerului alveolar? Cum se va modifica compoziţia aerului alveolar în timpul reţinerii maxime a respiraţiei?

6. INFLUENTAREA REFLEXA A RESPIRATIEI.

Centrii respiratori pot fi influenţaţi de impulsurile nervoase venite din diverse zone ale corpului. Excitaţiile pornite din [illegible]ocardo-aortica şi sinocarotidiana, cauzate de presiunea

crescută a sîngelui , deprimă respiraţia, iar scaderea presiunii-o intensifică.Acest reflex intervine în hemoragie, compensînd parţial lipsa de sînge prin intensificarea schimburilor gazoase.

Receptorii pulmonari localizaţi în pleura viscerală, bronhii, bronhiole şi chiar în alveole, detectează gradul de distensie sau de colabare a plămînilor.Prin distensia plămînilor în timpul inspiraţiei, receptorii de tensiune, cu precadere cei din bronhiole, transmit impulsuri prin nervii vagi spre centrul respirator, determinînd inhibarea centrului inspirator, evitînd prin aceasta distensia prea puternica a plaminilor.Acest reflex poartă denumirea de reflexul Hering-Breuer de distensie.Exista şi reflexul Hering-Breuer de retracţie, mai puţin activ decît primul, care apare ca urmare a excitării în timpul expiraţiei a receptorilor de comprimare, care transmit impulsuri prin n.vag spre centrul respirator,inhibînd expiraţia.Dupa secţionarea nervilor vagi, frecvenţa respiratorie scade.Mişcările respiratorii devin mai ample şi inspiraţia prelungita.Inspiraţia este separată de expiraţie prin pauze.

Respiraţia este stimulata şi de excitaţiile plecate de la nivelul receptorilor din muşchi şi tendoane, mecanism important de adaptare a respiraţiei la efort.

Excitarea exteroreceptorilor influenţeaza, de asemenea, respiraţia.Astfel imersia brusca în apă rece, inhibă respiraţia.Excitaţiile cutanate puţin dureroase, intensifica respiraţia, iar cele puternice o inhibă, putînd chiar s-o oprească temporar.

Respiraţia este oprita în timpul faringian al deglutiţiei.

În reglarea respiraţiei o importanţa deosebită prezinta impulsurile de origine corticala, respiraţia fiind una din funcţiile cele mai corticalizate.Excitarea electrica a ariei motoare sau a girusului cingulat, determină o creştere a ventilaţiei pulmonare.

În cele ce urmează se vor demonstra unele influenţe exercitate asupra centrului respirator pe calea nervoasă.

Material necesar: pneumograf;kimograf;cronograf; electrozi de excitare;stimulator;trusa de instrumente chirurgicale;canulă traheală în formă de V;iepure.

Mod de lucru:Se montează instalaţia pentru înregistrarea pneumogramei.Se introduce canula în traheea animalului narcotizat în prealabil.La nivelul gîtului animalului se prepară arterele carotide şi nervii vagi.Se înregistrează pneumograma în următoarea ordi-

ne: 1-excitarea nervului vag (Fig.7); 2-clamparea ambelor artere; 3-clamparea traheei pentru 20-30 secunde.Experimentul se termină prin înregistrarea pneumogramei după bivagotomia simultană.

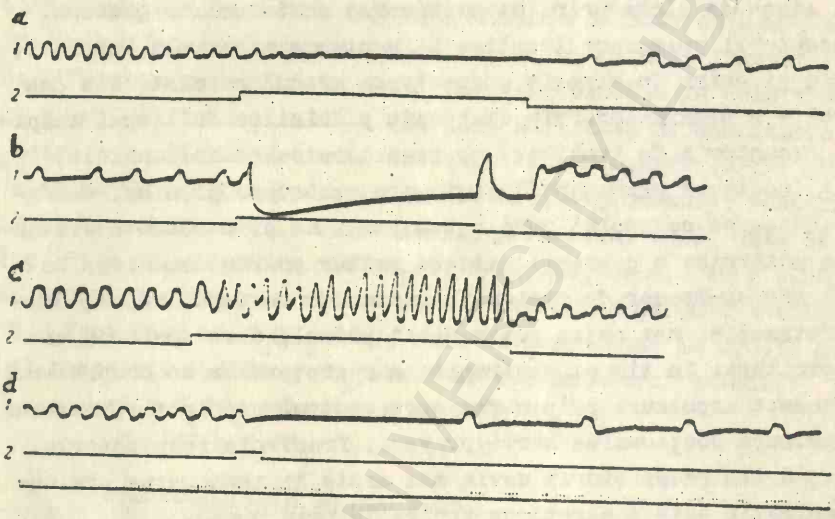


Fig.7.Influenţa unor factori asupra reglării respiraţiei. a-excitarea nervului vag; b-clamparea arterelor carotide;c-clamparea traheei;d-bivagotomia.1-curba respiraţiei;2-marcarea aplicării factorului experimental.Timpul 0,3 s.

Recomandări:Curbele înregistrate se vor fixa în caiet şi se vor analiza.

Întrebări de control: Prin ce mecanism se produc modificari respiratorii în urma pensării carotidei şi respectiv a traheei?

7.REGLAREA RESPIRAŢIEI PE CALEA UMORALĂ.

Cînd vorbim de reglarea umorală a respiraţiei, avem în vedere în primul rînd reglarea activităţii respiratorii prin modificarea concentraţiei sanguine a O_2,CO_2 sau a ionilor de hidrogen. Bioxidul de carbon şi ionii de hidrogen influenţeaza respiraţia cu precădere prin acţiunea lor directa asupra centrului respirator, în timp ce oxigenul acţionează aproape în întregime asupra chimioreceptorilor periferici, care la rîndul lor influenţează centrul respirator.Odată cu scaderea concentraţiei O_2 din sîngele arterial, chimioreceptorii periferici (majoritatea lor fiind în corpusculii carotidieni şi aortici) se excită intens, ceea ce duce la creşterea respiraţiei.Excitarea chimioreceptorilor periferici poate avea loc

şi sub acţiunea concentraţiilor crescute a CO_2 sau a ionilor de hidrogen, totuşi acţiunea acestora din urmă asupra centrului respirator este mult mai intensă.

Material necesar: trusă de instrumente chirurgicale;6 l de aer cu următoarea compoziţie: 10-14% O_2;0,03% CO_2;86% N_2; aparatul Kipp; echipamentul pentru înregistrarea pneumogramei;iepure.

Mod de lucru: schema de instalare a aparatelor pentru înregistrarea pneumogramei, va fi aceeaşi ca la lucrarea 6.Se fixează iepurele pe masa de operaţie şi se prepară ambii nervi depresori.Tubul în formă de V se introduce în trahee.Se va înregistra pneumograma în timpul respirării aerului atmosferic (Fig.8 a), după care folosind un robinet cu trei căi, trecem animalul pe respiraţia aerului din amestec (10-14% O_2) (Fig.8b).Cu ajutorul robinetului cu trei căi, comutăm respiraţia animalului la o concentraţie mărită de CO_2.Se vor secţiona bilateral nervii depresori şi se vor denerva arterele carotide.Se va înregistra pneumograma în timpul respirării aerului atmosferic (Fig.8c), după care trecem animalul pe respirarea amestecului de aer (10-14% O_2) şi continuăm să înregistrăm pneumograma (Fig 8d).

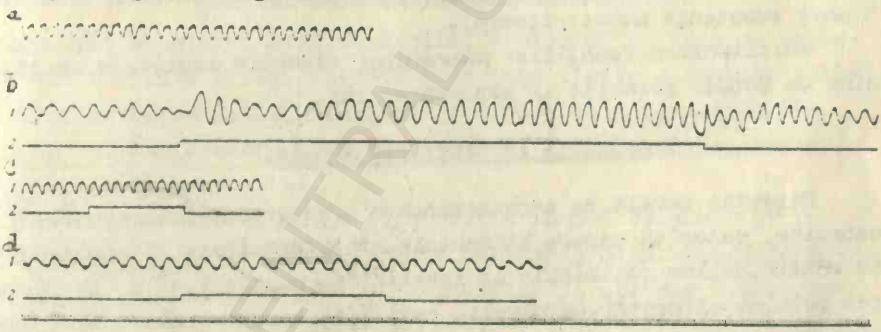


Fig.8.Influenţa umorală asupra respiraţiei.
a-respiraţia aerului atmosferic;b-respiraţia amestecului gazos; c-secţiunea depresorului şi denervarea completă a aortei; d-respirarea amestecului gazos după denervarea aortei.1-pneumograma; 2-acţiunea factorilor.

Recomandări: Se va analiza caracterul modificărilor respiratorii, induse de compoziţia aerului inspirator, înainte şi după secţionarea nervilor.

Întrebări: Cum explicaţi neafectarea pneumogramei de către hipoxemie în urma secţionării nervilor lui Hering şi aortici?

CAPITOLUL II

DIGESTIA

Digestia reprezintă totalitatea proceselor, care asigură transformarea alimentelor în substanţe asimilabile de către organism.În procesul digestiei alimentele sînt fărîmiţate mecanic, umectate, transportate de-a lungul tractului digestiv, descompuse sub acţiunea enzimelor şi în cele din urmă absorbite.Această prelucrare a alimentelor se realizează datorită funcţiilor proprii aparatului digestiv: 1-funcţia motorie (prelucrarea mecanică a hranei, amestecarea ei cu sucurile digestive, deplasarea în lungul tubului digestiv); 2-funcţia secretorie (secreţia enzimelor digestive, care descompun chimic substanţele nutritive); 3-funcţia de absorbţie (trecerea produselor,rezultate din scindarea substanţelor nutritive, din lumenul tubului digestiv în sînge sau limfă).

Afară de aceste funcţii, aparatul digestiv îndeplineşte şi alte roluri, ca de exemplu: funcţia endocrină (sinteza şi eliberarea unor hormoni); funcţia excretorie (excretarea în lumenul tubului a unor substanţe nefolositoare).

Multitudinea funcţiilor aparatului digestiv implica o multitudine de metode folosite în explorarea lui.

9.DIGESTIA IN CAVITATEA BUCALA.

Digestia bucală se caracterizează predominant prin procese mecanice, datorită cărora alimentele sînt fărămiţate şi amestecate cu salivă.Saliva contribuie la facilitarea masticaţiei şi la formarea bolului alimentar.La nivelul cavităţii bucale transformări chimice suferă numai glucidele sub acţiunea ptialinei, o alfa amilază, care scindează amidonul fiert pînă la nivelul maltozei.Sub acţiunea urmelor de maltază existentă în salivă, maltoza este scindată în două molecule de glucoză.

A.Recoltarea salivei.

La animalele de experienţă recoltarea salivei se face prin metoda fistulelor salivare acute sau cronice.În procedeul fistulelor salivare acute, recoltarea se face prin introducerea unui cateter în canalul excretor al uneia din glandele salivare ale animalului anesteziat şi excitarea nervului excretor corespunzător.

In cazul folosirii fistulelor salivare cronice, recoltarea se face pe animalul in stare de veghe, căruia în prealabil i s-a exteriorizat orificiul canalului excretor al glandei submandibulare sau parotide.

La om recoltarea salivei secretate de glandele submandibulare sau parotide, se face cu ajutorul capsulei lui Krasnogorski, care se fixează în cavitatea bucală, la nivelul de vărsare a canalelor excretoare ale glandelor, prin aspirarea aerului din capsulă cu ajutorul unei pere de cauciuc.

In experienţele de laborator se foloseşte saliva mixtă, a cărei secreţie se va mări prin introducerea unei bucăţi de parafină în cavitatea bucală, după clătirea prealabilă a gurii cu apă de robinet, pentru îndepărtarea eventualelor resturi alimentare. Saliva colectată se filtrează prin câteva straturi de tifon. Se poate dilua cu apă distilată în proporţie de 1 ml salivă la 50 ml apă. Acesta va fi preparatul enzimatic, ce va fi folosit pentru studiul rolului digestiv al salivei.

B. Compoziţia chimică a salivei.

Compoziţia salivei este variabilă, depinzînd de rata de secreţie. In medie saliva mixtă, secretată de totalitatea glandelor salivare, conţine aproximativ 99,4% apă şi 0,6% substanţe solide, din care 0,2% substanţe anorganice şi 0,4% substanţe organice, inclusiv celule (epiteliii, leucocite).

Substanţele minerale sînt cele găsite în mod obişnuit şi în plasmă. Clorurile din salivă au rol în activarea ptialinei. Bicarbonaţii, fosfaţii alături de mucină, acţionează ca sisteme tampon, pH-ul salivei fiind destul de constant = 6,0-7,0 cu oscilaţii extreme 5,75-7,05. Carbonatul şi fosfatul de calciu, solubili la un pH acid, pot să precipite în interiorul canalelor salivare, sub formă de calculi salivari, atunci cînd saliva devine alcalină. In prezenţa unei salive bogate în mucină se pot depune sub formă de tartru dentar.

Sulfocianura de potasiu, sau rodanatul de K, se găseşte totdeauna în salivă. Producerea şi eliminarea lui, care constituie un factor antimicrobian, ar întreţine asepsia gurii şi ar reprezenta un mecanism de dezintoxicare a organismului de cianuri. La fumători se găseşte în cantitate de aproximativ 10 ori mai mare.

Substanţele organice sînt reprezentate prin mucină, cu rol important în formarea bolului alimentar şi în protejarea întregului tract digestiv ; amilaza salivară (ptialina) cu rol în scindarea amidonului;lizozimul- o enzimă bactericidă, care se secretă cu mucusul, avînd o acţiune litică asupra stafilococilor, streptococilor, meningococilor şi altor microorganisme.La 80% din subiecţi umani, saliva conţine aglutinogeni în concentraţie superioară celor din sînge.

Saliva conţine o enzimă proteolitică,kalicreină,care acţionează asupra unor proteine din plasmă, dînd naştere bradikininei, un polipeptid vasodilatator.Afară de enzime, saliva mai conţine şi alte proteine.

Din substanţe azotate neproteice, saliva conţine: uree,acid uric,creatina,creatinina,aminoacizi.In mod normal glucoza este absentă în salivă,iar alcoolul se găseşte în aceeaşi concentraţie ca şi în sînge.

Prin salivă se pot elimina unele substanţe toxice:Pb,Hg,Bi,I, Cu.

Evidenţierea substanţelor anorganice.

Material necesar:HCl 5%;HCl 10%;$FeCl_3$ 3%;HNO_3 conc.;$AgNO_3$ 5%; molibdat de amoniu 3%; acid acetic, pipete,eprubete.

1.Evidenţierea sulfocianaţilor:Se iau într-o eprubetă 2-3 ml de salivă, se acidifică cu 3-4 picături HCl 5% , peste care se toarnă 1-2 picături clorura ferică 3%.Apare o coloraţie roşie, caracteristică rodanatului feric, mai ales în jurul filamentelor de mucină.

2.Evidenţierea clorurilor:Se pun într-o eprubetă 1-2 ml saliva, se tratează cu cîteva picături de HNO_3 conc., se încalzeşte, după care se adaugă cîteva picături de $AgNO_3$.Se obţine un precipitat alb laptos de AgCl.

3.Evidenţierea sulfaţilor.Se iau într-o eprubetă 1-2 ml saliva fiartă, se adaugă 2-3 picaturi de HCl soluţie 10% şi cîteva picături de $BaCl_2$ 5%.Apare un precipitat alb de sulfat de bariu.

4.Evidenţierea fosfaţilor:Se iau într-o eprubetă 1-2 ml salivă fiartă şi se acidulează cu HNO_3 concentrat.Se adaugă molibdat de amoniu în exces şi se încalzeşte la flacără pînă la fierbere. După răcire se observă apariţia unor cristale galbene de fosfomolibdat de amoniu.

5.Evidenţierea bicarbonaţilor:Intr-o eprubetă se pun 1-2 ml salivă, peste care se adaugă 1-2 picături acid acetic.Se observă apariţia unor bule gazoase de CO_2.

Evidenţierea substanţelor organice.

Material necesar:HNO_3 conc.;NaOH 20%; acid acetic 20%;reactiv Fehling I şi II.

1.Evidenţierea mucinei:Se iau într-o eprubetă 2-3 ml salivă, peste care se adaugă 3-4 picături acid acetic 20%.Se constată apariţia unui precipitat filamentos caracteristic mucinei.

2.Evidenţierea proteinelor: Reacţia xantoproteică: 1 ml saliva peste care se adaugă cîteva picături de HNO_3 conc.Se fierbe, obţinîndu-se o culoare galbenă.Se răceşte bine la curent de apă, după care se adaugă 1 ml NaOH 20%, obţinîndu-se coloraţia portocalie.Reacţia este datorită prezenţei nucleului benzenic (fenilalanina,tirozina şi triptofanul).

C.Rolul salivei în digestie.

Rolul digestiv al salivei se datorează cu precădere amilazei salivare (ptialina).Acţiunea ei se exercită asupra amidonului fiert sau copt, precum şi asupra glicogenului.Nu descompune celuloza. PH-ul optim de activitate este în jur de 6,8, dar acţiunea amilazei se continuă şi în stomac, aproximativ 1/2 oră, pînă la acidifierea bolului în contact cu acidul clorhidric gastric.Scindarea amidonului are loc prin etape intermediare de dextrine:amidon fiert→ amilodextrine→ eritrodextrine →acrodextrine, care se scindează în maltoză şi izomaltoză.Stadiul final de scindare a amidonului sub acţiunea ptialinei este maltoza şi izomaltoza.Datorită prezenţei urmelor de maltază în saliva, pot apare în stadiul final şi urme de glucoză.

Recunoaşterea produşilor intermediari de degradare a amidonului se face prin urmărirea reacţiei de colorare, pe care aceştia le dau cu soluţia Lugol: coloraţia albastră—— amidonul şi amilodextrinele; roşu —— eritrodextrinele iar acrodextrinele rămîn incolore.

Recunoaşterea maltozei, dizaharid reducător, se face prin reacţia Fehling.In acest scop se amestecă volume egale de Fehling I şi II, care se încălzesc uşor, după care se toarnă peste substanţa reducătoare şi se fierbe.Apare un precipitat roşu-cărămiziu.

Amestecul soluţiilor Fehling I şi II duce la formarea de hidroxid cupric, care sub acţiunea reducătoare a zaharurilor, este transformat în oxid cuproa (Cu_2O), compus care se depune sub forma unui precipitat roşu-cărămiziu.

1.Determinarea concentraţiei amilazei salivare.

Material necesar: IK 2% + cristale de I;amidon fiert 1%;NaCl 1 %; tampon fosfat pH 6,8 (27.6 g $NaH_2PO_4.H_2O$ se solvă în 1000 ml Se obţine o soluţie 0,2M; 28,39 g Na_2HPO_4 sau 53,62 g $Na_2HPO_4.7H_2O$ se solvă în 1000 ml.Se obţine o soluţie 0,2 M.Se iau 51 ml soluţie A şi 49 ml soluţie B);acid citric 0,1 M;saliva diluată de 50 ori.

Tehnica:Se ia o serie de 10 eprubete şi se pipetează în fiecare cîte 2 ml de soluţie uşor gălbuie de iod (IK 2% cu suficiente cristale de iod, ca să se obţină o coloraţie gălbuie).Aceste eprubete vor servi drept indicator al reacţiei.

Intr-o eprubetă punem 5 ml amidon fiert 1% (substrat); 2ml NaCl 1%;2ml tampon fosfat pH 6,8.Introducem eprubeta în baie de apă la 38°C.După ce conţinutul eprubetei a atins temperatura băii, se adaugă în eprubetă 1 ml de salivă diluată (enzima), se amestecă şi se notează timpul de adăugare.După aceasta, la intervale de cîte 1 minut, se scot cîte 2 picături de conţinut, pe care le introducem într-un tub indicator.Se va înregistra timpul cînd nu se mai modifică culoarea indicatorului (punctul acromatic).Obişnuit la concentraţia optimă, punctul acromatic se obţine în 5-10 minute.

Cantitatea de enzimă din salivă se exprimă în unităţi de amilază,care este definită ca fiind cantitatea de amilază necesară pentru a digera 5 ml amidon 1% pînă la punct acromatic în 10 minute. Numărul de unităţi de amilază dintr-un mililitru de salivă testată, este egal cu 50 (diluţia folosită) x 10 împărţit la numarul de minute pînă la punct acromatic.Valori normale:100-150 unităţi.

2.Efectul pH-ului asupra activităţii amilazei.

Se amestecă 0,2M Na_2HPO_4 cu 0,1 M acid citric conform tabelului de la pagina 21 în vederea obţinerii unor soluţii tampon cu un pH cuprins între 3 şi 8.După aceasta se determină viteza de reacţie,cu un preparat enzimatic la care se obţine punctul acromatic în aproximativ 10 minute.Astfel,dacă în testul iniţial erau necesare 3 minute, se vor dilua 30 ml din preparatul iniţial

la 100 ml din care se va folosi 1 ml de preparat enzimatic.

pH	0,2 M Na_2HPO_4 ml	0,1 M acid citric ml
3,0	4,11	15,89
4,0	7,71	12,29
5,0	10,30	9,70
6,0	12,63	7,37
7,0	16,47	3,53
8,0	19,45	0,55

3.Efectul temperaturii asupra activităţii amilazei.

Acest experiment va fi efectuat cu o diluţie de salivă, la care se obţine punctul acromatic în condiţii optime în aproximativ 10 minute.Preparatul va fi testat la o serie de 6 temperaturi situate atît deasupra cît şi sub temperatura optimă de 38°C.

Recomandări:Produsul final obţinut prin digestia salivară, se va verifica prin reacţia Fehling (pozitivă).Se va reprezenta grafic activitatea enzimei funcţie de pH şi temperatura.

Prepararea amidonului: 2 g de amidon se suspendă în puţina apă rece, după care se adaugă pînă la 200 ml apă clocotită.Se agită continuu şi se pune din nou la fiert.Se răceşte.

Intrebari de control: Ce rol au diferiţi constituenţi ai salivei ? Cum se reglează secreţia salivară?

10.COMPOZITIA SI ACTIUNEA DIGESTIVA A SUCULUI GASTRIC.

Sucul gastric este un lichid incolor, limpede, acid, fără miros.Cantitatea secretată este variabilă, fiind influenţată de cantitatea şi natura alimentaţiei.

Densitatea variază între 1,002-1,009, iar pH-ul între 0,92-2,2. In compoziţia sucului gastric intră substanţe minerale :acidul clorhidric, cloruri de sodiu,potasiu,amoniu, fosfaţi de calciu şi magneziu, sulfocianuri, precum şi substanţe organice:enzime (pepsina, labfermentul (renina gastrică), lipaza gastrică, lizozim),mucină, factorul intrinsec a lui Castle.

A.Obţinerea sucului gastric.

La animale de experienţă sucul gastric se poate obţine prin metoda fistulelor gastrice,metoda prînzului fictiv şi metoda micului stomac a lui Pavlov.

La om recoltarea se face prin metoda tubajului gastric, care constă în introducerea unei sonde de cauciuc în stomac, aspirarea conţinutului existent în acesta, administrarea unui prînz de probă sau de substanţe, care stimulează secreţia gastrică şi apoi analiza cantitativă şi calitativă, prin aspirarea sucului secretat la anumite intervale de timp.Procedeele de stimulare a secreţiei gastrice sînt foarte numeroase şi încă insuficient standardizate.Mai fundamentate din punct de vedere fiziologic sînt probele farmacologice, folosindu-se agenţi care stimulează fie direct masa celulelor secretoare (gastrina,histamina) fie indirect, prin intermediul nervului vag (insulina)

In laborator sucul gastric se poate prepara din mucoasa stomacală de porc.In acest scop se ia un stomac de porc şi după ce se spală de conţinutul gastric, se scoate mucoasa, se taie în bucăţi mici, se triturează în mojar cu sticlă pisată, se pune în 2000 ml HCl 0,4% şi se lasă 24 de ore să macereze.Se filtrează prin tifon de mai multe ori, pînă se obţine un filtrat destul de clar.Acesta poate fi folosit ca suc gastric artificial.

Se mai poate obţine suc gastric artificial solvind 4 g pepsină în 1000 ml HCl 0,4%.

B.Dozarea aciditătii sucului gastric.

Aciditatea sucului gastric este compusă din aciditatea liberă, dată de acidul clorhidric liber şi aciditatea combinată, dată de HCl şi alţi acizi legaţi de diferite substanţe din conţinutul stomacal, în special aminoacizi şi proteine.Suma aciditătii libere şi a celei combinate, reprezintă aciditatea totală.

Aciditatea liberă se determină prin titrare cu NaOH N/10 în prezenţa dimetilaminoazobenzolului (reactiv Töpfer), iar aciditatea totală- în prezenţa fenolftaleinei ca indicator.

Material necesar:biuretă, pahare Erlenmeyer, pipete, suc gastric,indicator Linossier:0,25 g dimetilaminoazobenzol, 1 g fenolftaleină şi alcool ad 100 ml; NaOH N/10.

Tehnica:Intr-un pahar Erlenmeyer se pipetează 5 ml suc gastric şi se adaugă 2 picături de indicator Linossier.Dacă sucul gastric conţine HCl liber, apare o coloraţie roz, datorită dimetilaminoazobenzolului.Se titrează cu NaOH N/10 pînă cînd culoarea soluţiei virează în galben-portocaliu.Se notează cu A numărul de ml hidroxid întrebuinţaţi.Se continuă titrarea cu NaOH pînă cînd culoarea virează în roz (virajul fenolftaleinei).Se notează cu B numărul de ml NaOH N/10 necesari pentru obţinerea acestui viraj.

Calcul şi exprimarea rezultatelor. Numărul de ml NaOH N/10 utilizaţi pînă la virajul în galben-portocaliu (A ml), serveşte pentru calculul aciditătii libere, iar numarul de ml NaOH N/10, adăugat pînă la virajul final (A+B ml) serveşte pentru calculul aciditătii totale.B reprezintă acidităţea combinată.

Concentraţiile de acid se exprimă sub formă de unităţi clinice Jaworski sau mEq/l. Unităţile clinice reprezintă numărul de ml NaOH N/10, necesari pentru neutralizarea aciditătii în 100 ml suc gastric.

Inmulţind numarul de ml NaOH, necesari pentru neutralizarea aciditaţii din 5 ml suc gastric, cu 20 se obţine rezultatul în unităţi clinice.Astfel: Ax 20= acidităţea liberă în unităţi clinice

B x 20 = aciditatea combinată în unităţi clinice

(A+B) x 20= aciditatea totală în unităţi clinice.

Deoarece numărul de ml NaOH N/10, necesari pentru neutralizarea aciditătii din 100 ml suc gastric, este egal cu numărul de ml NaOH 1N, necesari pentru neutralizarea aciditătii din 1000 ml suc gastric, unităţile clinice corespund cu mEq/l (1 unitate clinică= =1mEq/l).

In unele laboratoare se mai utilizează exprimarea aciditătii sub formă de grame HCl/1000 ml.Deoarece un miliechivalent de HCl este egal cu 0,0365 g, transformarea unităţilor clinice (mEq/l) în g HCl, se face înmulţindu-se valoarea în unităţi clinice cu factorul 0,0365.

Valorile normale ale acidităţii gastrice, variază funcţie de absenţa sau prezenţa stimulării gastrice precum şi de tipul de stimul folosit.Secreţia bazală prezintă o aciditate liberă cuprinsă între 0 - 30 mEq/l, iar aciditatea totală- 10 - 50 mEq/l.Prin stimulare cu histamină concentraţiile acidităţii libere ajung la valori de 50- 120 mEq/l iar aciditatea totală- 60- 140 mEq/l.

Rolul acidului gastric în digestie: transformă pepsinogenul în pepsină; creează pH-ul optim de acţiune a enzimelor gastrice; se combină cu substanţe proteice, formînd acid albumine, care pot fi atacate ulterior de pepsină;solvă colagenul;precipită cazeinogenul din lapte; împiedică fermentaţia şi putrefacţia; exercită o acţiune antiseptică şi provoacă la nivelul duodenului secreţia secretinei.

C.Rolul pepsinei în digestie.

Pepsina este enzima de bază a sucului gastric.Este secretată sub forma inactivă- de pepsinogen- cu greutate moleculară de 42.500 care în prezenţa HCl, la un pH sub 6, se transformă în formă activă de pepsină cu greutate moleculară de 35.000.In prezenţa unor cantităţi mici de pepsină activă, autocatalitic se activează întregul pepsinogen.

Pepsina este o enzimă proteolitică cu activitatea optimă la pH 2.La pH > activitatea pepsinei încetează.Ea scindează proteinele, care au fost solubilizate sub formă de acid albumine, pînă la stadiul de proteoze şi peptone.

Există şi alte cîteva tipuri de pepsine, secretate în cantitate mai redusă, ca de exemplu gastricsina sau pepsina I.Activitatea ei este de aproximativ 1/4 din cea a pepsinei de bază, numită şi pepsina II şi are un optim de activitate la pH 3.

Material necesar:HCl 2°/oo ;HCl conc.;soluţie pepsină;fibrină; baie de apă; eprubete;pipete; stativ eprubete;termometru baie.

1.Necesitatea prezenţei HCl pentru acţiunea pepsinei.

Tehnica:Se iau trei eprubete.In prima eprubetă pipetăm 2ml apă, în cea de a doua- 2ml HCl 2°/oo , iar în eprubeta a treia- 2ml HCl 2°/oo şi 6 picături de pepsină.Adăugăm în fiecare eprubetă cîte un fragment de fibrină (substrat).Cele trei eprubete astfel pregătite se pun la baie de apă (38-40°C) timp de 3 ore.

Se va constata că pepsina îşi exercită acţiunea digestivă, numai în prezenţa HCl.

2.Influenţa pH-ului asupra activităţii pepsinei.

Tehnica:Se iau trei eprubete.In eprubeta 1 se pun 0,5ml HCl 2°/oo;1,5 ml apă;6 picături pepsină ; fibrină.In eprubeta 2 se

pun 2 ml HCl 2°/oo;6 picături pepsină;fibrină.In eprubeta 3: 1,8 ml HCl 2°/oo; 2 picături HCl conc.;6 picături pepsină;fibrină.

Eprubetele se pun la baie de apă (38-40°C) pentru 3 ore, după care, pe baza aspectului fibrinei sau a soluţiei din eprubete, se trag concluzii cu privire la gradul de digestie care a avut loc şi importanţa pH-ului în acest proces.

D.Evidenţierea produşilor de digestie pepsică.

Material necesar:stativ cu eprubete;pîlnii mici;pipete;hîrtie de filtru;hîrtie de turnesol;suc gastric cu produşi de degradare a substanţelor proteice;soluţie NaOH 1%;sulfat de amoniu cristali; NaOH 20%; $CuSO_4$ 1%; alcool.

Tehnica: a-Precipitarea acid albuminelor.Se iau într-o eprubetă 10 ml suc gastric cu produşi de digestie pepsică, peste care se adaugă picătură cu picătură NaOH 1% pînă la neutralizare (în prezenţa hîrtiei de turnesol).Apare o uşoară tulbureală, datorită precipitării acid albuminelor, care prin lăsarea eprubetei în repaus devine mai intensă.Dacă se adaugă NaOH în exces, se împiedică obţinerea precipitatului de acid albumine, deoarece acestea în mediu alcalin se transformă în alcalalbumine, solubile în mediu alcalin.Se filtrează şi se păstrează filtratul.Precipitatul de pe filtru se solvă cu cîteva picături de NaOH şi 2-3 ml apă distilată. În soluţia astfel obţinută se face reacţia biuretului (3ml NaOH 20% + 3-4 picaturi SO_4Cu 1% + cîteva picături de conţinut de analizat.Se agită.Apare o culoare albastru-violet, datorită prezenţei acid albuminelor).

b-Precipitarea albumozelor.Peste filtratul obţinut în experienţa anterioară (a), se adaugă sulfat de amoniu cristale pînă la saturare.Se formează un precipitat de albumoze.Se filtreaza. Precipitatul obţinut pe hîrtia de filtru se dizolva în apă distilată şi în produsul obţinut se face reacţia biuretului, care este pozitivă (coloraţia violet-roşietică).

c-Evidenţierea peptonelor. In filtratul din ultima experienţă (b) se pun în evidenţă peptonele prin urmatoarele reacţii caracteristice: -prin fierbere nu coagulează

-cu un volum triplu de alcool, dau un inel alb

-reacţia biuretului este pozitivă.

Recomandări: Se vor nota rezultatele obţinute şi se vor trage concluziile.

Intrebări: Care este compoziţia chimică a sucului gastric? Ce rol îndeplinesc componenţii sucului gastric? Ce transformări chimice suferă alimentele în stomac? Cum se reglează secreţia gastrică?

11. COMPOZITIA LAPTELUI.

Laptele- produsul de secreţie al glandelor mamare- este o emulsie de picături de grăsime într-o soluţie coloidală de proteine, împreună cu soluţii de glucide, săruri minerale, vitamine, anticorpi şi enzime.

Prezintă o reacţie ionică în jurul neutralităţii. Proteinele sînt reprezentate prin cazeinogen, lactoalbumine şi lactoglobuline. Cazeinogenul este o fosfoproteină solubilă, care sub acţiunea sucului gastric se transformă în paracazeină, iar aceasta prin combinare cu Ca^{++} — în cazeină insolubilă.

Lactoalbuminele şi lactoglobulinele sînt analoage serumalbuminelor şi serumglobulinelor.

Glucidele se găsesc sub formă de lactoză.

Grăsimile sînt reprezentate prin gliceride (90%) şi acizi graşi. Există, de asemenea, fosfolipide (lecitină, cefalină) şi steroli.

Cele mai importante săruri din punct de vedere fiziologic, care se găsesc în lapte, sînt cele de calciu şi fosfor şi se găsesc în raport optim de 1,3, rezultat din 0,12/ 0,09

1. Evidenţierea proteinelor, lactozei, anionilor şi cationilor.

Material necesar: lapte proaspăt, NaOH 20%, $CuSO_4$ 1%, acid azotic, molibdat de amoniu, azotat de argint, oxalat de K, $(NH_4)_2SO_4$ cristale, acid acetic 10%, Fehling I şi II, eprubete, pîlnii mici, pipete.

Mod de lucru: a-Cazeinogenul. Se iau într-o eprubetă aproximativ 5 ml lapte şi se diluează cu 10 ml apă distilată. Se adaugă picătură cu picătură acid acetic, pînă apare un precipitat-cazeinogenul. Se agită şi apoi se filtrează. Pe filtru este reţinut cazeinogenul.

b-Lactoalbuminele. Se ia filtratul din experienţa anterioară şi se încălzeşte la fierbere. Precipită lactoalbuminele. Se filtrează. Precipitatul este reţinut pe filtru. Reacţia biuretului este pozitivă atît cu materialul din filtrat cît şi cu cel din precipitat.

Filtratul obţinut se împarte în 3 eprubete, în care se vor pune în evidenţă lactoza, anionii PO_4^{---}, Cl^- şi lactoglobulinele.

c.Lactoza. In filtratul din eprubeta 1 se face reacţia Fehling (pozitivă).Filtratul din eprubeta 2 se tratează cu acid azotic şi se împarte în 2 eprubete

d-Anionii PO_4^{---}.In filtratul din prima eprubetă se adaugă molibdatul de amoniu şi se încalzeşte la flacără.Apare un precipitat galben cristalin de fosfomolibdat de amoniu.

e-Anionii de Cl^-.Filtratul din a doua eprubetă se tratează cu azotat de argint.Apare un precipitat alb-lăptos de ClAg.

f-Lactoglobulinele- Filtratul din eprubeta 3 se tratează cu cristale de sulfat de amoniu pînă la saturare.Precipită lactoglobulinele.

2.Coagularea laptelui.

Procesul coagulării constă în transformarea cazeinogenului solubil în paracaseină, care prin combinare cu Ca^{++} se transformă în cazeină insolubilă.

In urma coagulării, laptele se separă în 2 părţi distincte: cheagul şi zerul.Cheagul se compune din cazeină, lipide şi fosfat tricalcic, iar zerul se compune în cea mai mare parte din apă, în care se găsesc substanţe proteice solubile (lactoalbumină, lactoglobulină), glucide (lactoza) şi o serie de săruri solubile.Coagularea laptelui se face în tubul digestiv la nivelul stomacului sub influenţa labfermentului (renina,presura).In procesul coagulării laptelui distingem două faze: a-faza fermentativă, care constă în transformarea caseinogenului în paracaseină sub acţiunea labfermentului b-faza fizico-chimică în care are loc transformarea paracaseinei în cazeină sub acţiunea ionilor de Ca^{++}.

A.Termolabilitatea presurei.

Material necesar:eprubete, stativ, pipete, lapte, soluţie labferment, baie de apă.

Tehnica: Se iau în 2 eprubete cîte 5 ml lapte şi în una din ele (1) se adaugă cîteva picături de labferment nefiert, iar în cealalta (2)-ferment fiert.Se pun la baie (40^oC).După cîteva minute se constată că în eprubeta 1 s-a produs coagularea iar în 2-nu.

B.Demonstrarea rolului Ca^{++} în coagulare.

Material necesar:acelaşi ca la punctul A;oxalat de K 1%;$CaCl_2$ 2%

Tehnica: Se iau patru eprubete în care se pun:
1-2ml lapte+ 0,5 ml oxalat de K 1% + presură
2-5 ml lapte oxalatat + presură + 1,5 ml $CaCl_2$
3-5 ml lapte oxalatat + presură + 0,5 ml $CaCl_2$
4-5 ml lapte + 1 ml $CaCl_2$(deci fără oxalat şi fără ferment)
Toate eprubetele se pun la baie la 40°C.Coagularea ne apare numai în eprubeta în care fermentul era în prezenţa unei cantităţi suficiente de Ca^{++} (eprubeta 2).

Intrebări de control: Care este compoziţia laptelui?De ce este necesară coagularea laptelui în stomac?

12.DIGESTIA IN INTESTINUL SUBTIRE.

Transformarea enzimatică a substanţelor la nivelul intestinului, se face cu participarea sucului pancreatic, a bilei şi a sucului enteric propriu-zis.Este faza cea mai importantă a întregii digestii şi singura indispensabilă.

A.Sucul pancreatic.

Sucul pancreatic este produsul de secreţie externă a pancreasului, care se varsă în duoden prin canalul lui Wirsung şi uneori printr-un canal accesoriu al lui Santorini.Se prezintă sub forma unui lichid incolor, clar, vîscos, cu reacţie alcalină, datorată îndeosebi conţinutului ridicat de bicarbonat de Na.

Dintre substanţe organice, pe care le conţine sucul pancreatic (0,7%), cele mai importante sînt enzimele, care acţionează asupra celor 3 categorii de substanţe:protide, glucide şi lipide.Enzimele secretate de pancreas sînt:tripsina,chimotripsina,carboxipeptidaza, ribonucleaza,amilaza şi lipaza.

Tripsina se secretă sub formă de tripsinogen, activarea făcîndu-se sub acţiunea enterokinazei sau a tripsinei.

Chimotripsina, o endopeptidază, se secretă sub formă de chimotripsinogen, care se activează sub acţiunea tripsinei.

Carboxipeptidaza este o exopeptidază, care scurtează lanţul polipeptidic al proteinelor prin detaşarea unui acid aminat din extremitatea care conţine o grupare carboxilică liberă.

Enzimele proteolitice pancreatice degradează proteinele ,pro-

teozele sau peptonele în di- tri- şi tetrapeptide sau chiar pînă la nivelul aminoacizilor.

Amilaza pancreatică are o acţiune asemănătoare celei salivare, însă este mult mai activă, fiind capabilă să digere şi amidonul crud.

Lipaza pancreatică descompune grăsimile neutre în glicerol şi acizi graşi.Este cea mai activă enzimă lipolitică din întregul tub digestiv.Ionii de Ca,Mg sînt activatori.

Explorarea funcţiei pancreasului se poate face în moduri diferite: a-examenul microscopic al materiilor fecale. În insuficienţa pancreatică în materiile fecale se găsesc fibre musculare nedigerate, grăsimi şi amidon; b-dozarea enzimelor pancreatice în sînge şi urină, mai ales a amilazei şi lipazei; c-dozarea enzimelor din sucul duodenal.Pentru a explora capacitatea pancreasului de a elabora enzime, stimularea secreţiei se face cu pancreozimină sau cu substanţe colinergice.d- îngerarea de trioleină marcată cu I^{131}.În lipsa lipazei pancreatice această substanţă nu poate fi scindată şi absorbită, aşa încît se elimină prin materiile fecale.

1.Recoltarea sucului pancreatic.

La animalele de experienţă se face prin metoda fistulelor pancreatice temporare (introducerea unei canule în canalul lui Wirsung) sau a fistulelor pancreatice cronice (abuşarea canalului excretor la peretele abdominal).Pentru menţinerea în viaţă a animalului cu fistulă pancreatică cronică, este necesar să i se administreze un regim lactat, sau să i se dea să îngere suc pancreatic şi să i se injecteze i.v. bicarbonat de Na şi soluţie Ringer.

La om se recoltează sucul duodenal, cu ajutorul unor sonde subţiri de tip Einhorn, introduse în duoden.Acest suc reprezintă un amestec de suc pancreatic, duodenal, gastric, bilă şi resturi alimentare.

2.Acţiunea digestivă a sucului pancreatic.

Material necesar:suc pancreatic;suc intestinal;bilă;fibrină; proteina alimentară (carne crudă şi fiartă, albuş de ou); ulei vegetal;soluţie amidon fiert şi crud(1%); fenolftaleină 1%;soluţie Lugol; NaOH 20%; $CuSO_4$ 1%;Fehling I şi II; baie de apă, termometru.

Tehnica:Se numerotează 11 eprubete.In primele 3 se pun cantităţi egale de fibrină, după care în eprubeta 1 punem 2 ml de suc pancreatic activat cu suc intestinal; în eprubeta 2 punem 2 ml de suc pancreatic neactivat, iar în eprubeta 3 adăugăm 2 ml suc pancreatic neactivat + suc intestinal fiert în prealabil.

In eprubetele 4-6 punem succesiv albuş de ou fiert, carne fiertă şi respectiv carne crudă şi adăugăm în fiecare eprubetă cîte 2 ml suc pancreatic activat.

Pentru analiza acţiunii lipolitice a sucului pancreatic se procedează astfel:în eprubetele 7-9 se pipetează cîte 0,5 ml de ulei neutru , după care în eprubeta 7 punem 2 ml suc pancreatic, 0,1 ml bilă şi 2-3 picături indicator (fenolftaleină).In eprubeta 8 adăugăm 2 ml suc pancreatic şi 1-2 picături indicator iar în eprubeta 9-2 ml suc pancreatic fiert, 1-2 picături bilă şi 1-2 picături indicator.

Pentru evidenţierea acţiunii amilazei se procedează astfel:în eprubeta 10 se pipetează 2 ml suc pancreatic + 2 ml amidon fiert iar în eprubeta 11 - 2 ml suc pancreatic + 2 ml amidon crud.

Toate eprubetele se pun în baie de apă la 37-38°C pentru 30 minute, după care se scot eprubetele, se răcesc şi se analizează conţinutul eprubetelor vizual şi calitativ.In eprubetele 1-6 se va observa prezenţa sau absenţa proteinei alimentare.Din soluţiile obţinute în eprubetele 1-6 se va face reacţia biuretului.

Comparînd eprubetele 7-8 cu eprubeta 9, de observat modificarea culorii ca urmare a apariţiei acizilor graşi.Cu conţinutul eprubetelor 10 şi 11 se va face reacţia lugol şi Fenling.

Recomandări:Pe baza rezultatelor obţinute se vor trage concluziile corespunzatoare.Se va compara puterea digestivă a sucului pancreatic cu cel gastric.

Intrebări de control: Ce rol fiziologic are sucul pancreatic? Ce condiţii de activitate necesită enzimele pancreatice?

13.BILA SI ROLUL EI.

Bila nu este un suc digestiv în adevăratul sens al cuvîntului, deoarece nu conţine enzime.La organismele, care prezintă o veziculă biliară, deosebim o bilă hepatică şi una veziculară.

La om bila hepatică este galben-aurie clară, aproape izotonica.Are un pH între 8-8,6.Bila veziculara este de culoare verde-

brună, tulbure din cauza resturilor epiteliale şi a sărurilor de calciu şi filantă din cauza mucinei.pH-ul bilei veziculare este cuprins între 7-7,6.La nivelul veziculei biliare, datorită reabsorbţiei apei, are loc o concentrare a substanţelor de 6-10 ori.

Constituenţii principali ai bilei sînt:sărurile biliare (glicocolatul şi taurocolatul de Na), pigmenţii biliari (bilirubina şi biliverdina), colesterolul,leucina,acizi graşi,mucina,bicarbonaţi, fosfaţi,cloruri de Na,K,Ca.

Bila are rol în digestia şi absorbţia lipidelor, prin emulsionarea lor, activarea indirectă a lipazei pancreatice, intervine în absorbţia acizilor graşi şi a vitaminelor liposolubile (A,D,E,K) cît şi a unor metale ca Fe,Ca,Cu, care în lipsa bilei formează cu grăsimile săpunuri insolubile.Indirect bila mai are o acţiune antiputrifica şi laxativă.Ea contribuie şi la neutralizarea în intestin a sucului gastric acid.

Recoltarea bilei se face experimental prin fistulă coledociana sau fistulă colecistică.La om recoltarea bilei se face prin tubaj duodenal.

Evidenţierea constituenţilor bilei.

Material necesar:stativ cu eprubete;pipete;bilă diluată; acid acetic 10%;zaharoză 10%;acid sulfuric concentrat;floare de sulf; acid azotic azotos;tinctură de iod;cloroform;HCl conc.;HNO_3 conc.; alcool; ulei vegetal.

Tehnica:a-Mucina: Se pun într-o eprubetă 2-3 ml bilă diluată peste care se adaugă cîteva picături de soluţie acid acetic.Apare un precipitat filamentos de mucină.

b-Sărurile biliare: Reacţia Pettenkoffer.Se pun într-o eprubetă 3-4 ml bilă diluată, peste care se adauga cîteva picături de zaharoză.Se introduc în eprubetă prin prelingere pe marginile ei, 3-4 ml H_2SO_4 concentrat.Se formează un inel roşu, care agitat colorează toată eprubeta în roşu.Reacţia se datorează acidului colalic, ce se formează din acizi biliari şi combinării acestuia cu furfurolul rezultat din zahăr.

Reacţia Hay.Se bazează pe proprietatea acizilor biliari de a coborî tensiunea superficială.Se iau într-o eprubetă 4-5 ml apă distilată, peste care se lasă să cadă floare de sulf.Aceasta rămîne la suprafaţă.Dacă se adauga bila, floarea de sulf cade la fundul eprubetei.Produsele biologice, în care floarea de sulf cade la fundul eprubetei, conţin săruri biliare.

c-Pigmenţii biliari.Reacţia Gmelin. Rapiditatea cu care pigmenţii biliari se oxidează şi modificările de culoare care au loc cu această ocazie, constituie baza reacţiei Gmelin pentru dovedirea prezenţei pigmenţilor biliari în lichidele biologice.

Se pun într-o eprubetă 2-3 ml bilă şi acid azotic azotos, turnat pe marginea eprubetei.La nivelul de separare dintre cele 2 lichide, apar o serie de inele suprapuse colorate în verde, roş,galben,albastru.Se datoresc produşilor de oxidare a bilirubinei în biliverdină.Ulterior, datorită oxidării complete, rămîne un singur inel de culoare verde.

Această reacţie poate fi efectuată şi în alt mod:se pune pe hîrtia de filtru o cantitate redusă de bilă şi lăsăm să cadă în mijloc 1-2 picături de acid azotic fumans.Pigmentul este oxidat şi apar o serie de inele concentrice de diferite culori, din centru spre periferie:galben- galben-roşiatic-violet şi albastru-verde.

Reacţia Trousseau.Se pun într-o eprubetă 2-3 ml bilă diluată peste care se adaugă, prin prelingere, tinctură de iod.La contactul dintre cele 2 lichide apare un inel verde, caracteristic biliverdinei.

Reacţia Hammarsten.Se pun într-o eprubetă 1 ml reactiv Hammarsten (se prepară din volume egale de HCl + HNO_3), se adaugă 4 ml alcool, apoi bilă.Se obţine un inel verde.

Acţiunea bilei asupra lipidelor.

1-Emulsionarea lipidelor.Turnăm într-o eprubetă puţin ulei vegetal, peste care adăugăm un volum egal de bilă.Astupăm ebrubeta şi o agităm.In urma agitării se formează un produs lăptos-emulsie de lipide.Se lasă eprubeta în stativ pentru 10-15 minute şi ne vom convinge că emulsia este stabilă, deoarece nu apare graniţa între straturi.Drept probă de control va servi o eprubetă în care în loc de bilă s-a turnat apă.

2-Influenţa bilei asupra filtrării lipidelor.In 2 pîlnii mici punem cîte o hîrtie de filtru.O hîrtie o umectăm cu apă, iar cealaltă-cu bilă.Punem pîlniile în cîte o eprubetă şi turnăm în fiecare o cantitate redusă de ulei.Uleiul se va filtra destul de uşor prin filtrul umectat cu bilă în timp ce prin filtrulumectat cu apă, nu se filtrează aproape de loc.

Intrebări: Care este compoziţia şi rolul bilei?Cum se reglează secreţia ei?

14.DISTRIBUTIA ENZIMELOR DIGESTIVE LA NEVERTEBRATE.

La multe nevertebrate ca şi la vertebrate, digestia este în mare măsură sau complet un proces extracelular, prin care alimentele sînt scindate în unităţi organice convenabile pentru absorbţie.Tractul digestiv al gîndacului de bucătărie, care va fi folosit în prezentul experiment, se prezintă sub forma unui tub modificat în subdiviziuni şi excrescenţe, ce deservesc anumite funcţii digestive: captarea hranei, conducerea şi depozitarea ei,triturarea şi scindarea chimică, absorbţia, conducerea şi formarea fecalelor.Enzimele digestive prezintă o localizare strictă de-a lungul tubului digestiv. In această lucrare se va testa activitatea enzimatică specifică a diferitelor segmente ale tubului digestiv,folosind un substrat adecvat.

Se vor folosi următoarele segmente ale tubului digestiv pentru testarea enzimelor hidrolitice:glande salivare;guşa;proventricul; intestinul mediu;intestinul posterior (Fig.9)

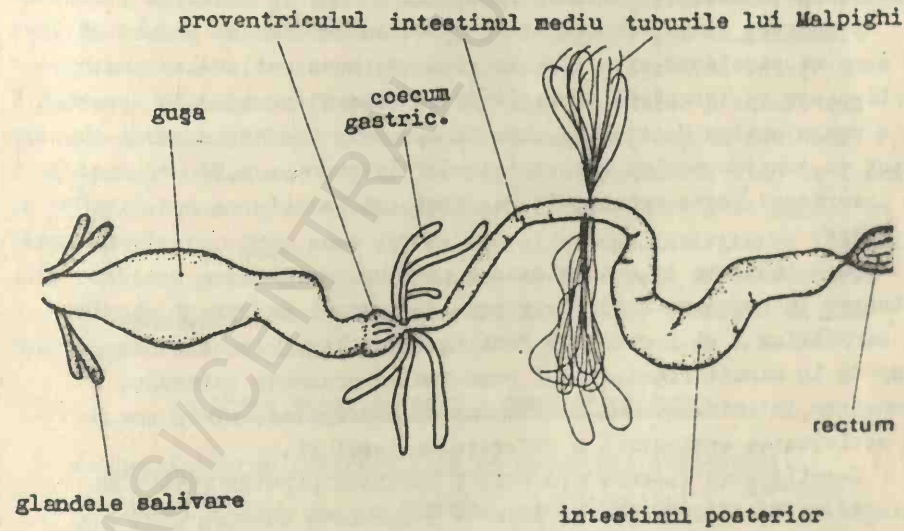


Fig.9.Tubul digestiv al gîndacului de bucătărie.

Se vor testa următoarele enzime:sucraza, amilaza,proteaza, lipaza.Aceste enzime vor fi testate în toate segmentele tubului digestiv indicate mai sus.

Tehnica:gîndacul de bucătărie se anesteziază cu CO_2.Cu u

rece se secţionează anusul de peretele corpului.Ţinînd animalul în soluţie fiziologică pentru insecte (vezi vol I) se scoate capul împreună cu intestinul.Se identifică părţile tubului digestiv indicate în Fig 9.

Se despică intestinul (cu excepţia glandelor salivare) şi, ţinîndu-l cu o pereche de pense, se spală bine într-un cristalizor cu soluţie fiziologică pentru insecte, în vederea înlăturării oricărui conţinut.Se izolează cele 5 regiuni ale tubului digestiv, pe care le punem separat în cîte un mojar mic de porţelan.Se adaugă un volum mic de soluţie fiziologică (0,1-0,3ml) şi se mojarează cu un pistil de sticlă, în vederea extragerii enzimelor.Extractul salin se transferă în eprubete mici şi se diluează pînă la aproximativ 0,5 ml.Din fiecare extract tisular se pipetează aproximativ 0,1 ml pe care-l transferăm în eprubeta 6 (deci o combinaţie a tuturor segmentelor).Acest extract combinat fierbem timp de 10 minute la o baie de apă pentru a denatura enzimele.El va servi drept control pentru enzimele de testat.

Extractul obţinut dintr-un tub digestiv va fi folosit pentru testarea unei singure enzime.

1-Sucraza (invertaza sau alfa-glucozidaza).Se iau 7 eprubete în care se pipetează cîte 1 ml sucroză 5% (substrat).Cele 5 extracte tisulare se transferă succesiv în primele 5 eprubete.In eprubeta 6 punem enzima denaturată, iar în eprubeta 7 adăugăm un extract ce conţine enzimă activă (standard) (exemplu 0,5% preparat de invertaza).Toate eprubetele se incubează la baia de apă timp de 1 oră.

După incubare se adaugă cîte o picătură de amestec extract-substrat în eprubete mici, ce conţin 4 picături de apă, 1 picătură de Fehling A şi 1 picătură Fehling B.Se fierbe la baia de apă timp de 10 minute.Precipitatul roşu indică prezenţa zahărului reducător.Estimînd vizual cantitatea de precipitat, se va compara activitatea enzimatică a diferitelor ţesuturi.

2-Amilaza.In fiecare din cele 7 eprubete pipetăm cîte 1 ml soluţie amidon fiert (1%).In primele 5 eprubete adăugăm cîte 0,1 ml de extract din fiecare segment, enzima denaturată o punem în eprubeta 6, iar amilaza de control (0,5%)- în eprubeta 7.Se incubează în baia de apă la 30°C.Se ia cîte o picătură de conţinut, pe care o punem pe o placă de porţelan, peste care adăugăm o pică-

tură de IIK.Peste 10 minute repetăm operaţia.Odată cu obţinerea unui test pozitiv pentru dextrine, se vor testa glucidele reducatoare cu soluţia Fehling.

3-Proteaze.Se aplică picături din preparatele enzimatice şi enzimele denaturate, pe suprafaţa unui film (partea cu gelatină), care a fost expus, developat, spălat şi uscat, avînd un aspect colorat uniform în negru.Drept standard punem o picătură de tripsină(0,5%).Se notează fiecare spot.Se aşează filmul într-o cameră umedă (de exemplu o cutie Petri, avînd la bază o hîrtie umectată), şi se lasă peste noapte.Se spală filmul.Dacă gelatina a fost digerată de protează, particulele de argint din film se vor desprinde uşor, lăsînd o pată clară.Dacă avem mai mult film la dispoziţie, putem încerca reacţia la diferite intervale de timp.In felul acesta se pot trage unele concluzii cu privire la concentraţia enzimelor.

4-Lipaze.Se vor prepara discurile Petri de testat în felul următor:se fierb 100 ml soluţie de agar 2% şi se combină cu 100 ml amidon solubil 5% fiert.Adăugăm 5 ml de grăsime neutră (ulei de măsline), încălzim şi agităm amestecul pînă obţinem o emulsie omogenă.Se toarnă în discuri Petri şi se răceşte rapid în frigider.

Cu un creion de ceară împărţim suprafaţa discului Petri în 7 sectoare radiale.Pe fiecare sector pipetăm cîteva picături din fiecare extract tisular şi controlul denaturat, iar în sectorul 7 se aplică un control pozitiv de lipază.Se incubează timp de 1 oră la 30°C. Se toarnă peste suprafaţă o soluţie saturată de $CuSO_4$, lăsăm 10 minute, dupa care clătim uşurel cu apă.Activitatea lipazei este indicată prin apariţia săpunului de Cu (pete albastrui-gri)

Recomandări:Se vor nota felurile de enzime, decelate în fiecare segment al tubului digestiv.

15.ACTIVITATEA MOTORIE A TUBULUI DIGESTIV

A.Inregistrarea contracţiilor de foame ale stomacului.

In timpul foamei apar modificări caracteristice în activitatea sistemului digestiv:contracţii periodice puternice ale stomacului şi intestinului, asociate cu o activitate secretorie a pancreasului şi glandelor intestinale.

Material necesar:kimograf;capsulă Marey;tub sticlă în formă de U;balon de cauciuc;cronograf;stativ;cleme;tub sticlă în formă de T;dispozitiv pentru imobilizat cîinele; Cîine cu fistulă gastrică, care a stat în inaniţie 16-18 ore.

Mod de lucru: Se aranjează sistemul de înregistrare ca în Fig.10.

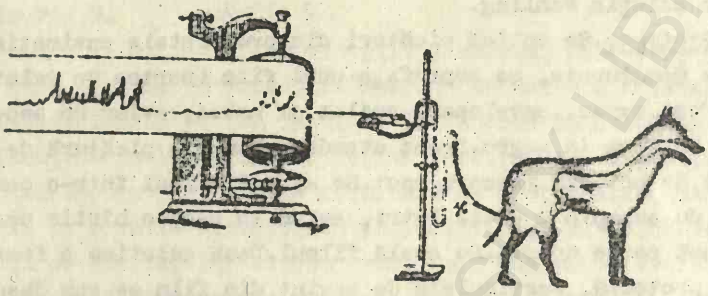


Fig.10.Inscrierea mişcărilor stomacului.

Tubul în forma de U conţine apă.Introducem în stomac prin fistulă un capăt al tubului de cauciuc, care are fixat un balon de cauciuc. Folosind tubul de sticlă în formă de T, umflăm balonul cu un volum de aer.

Apropiem penıţa capsulei Marey de kimograf şi începem înregistrarea.Viteza kımografului trebuie să fie redusa (10-12 mm/minut). Pe graficul obţinut se observă contracţii tonice ale stomacului şi contracţii de foame, care durează aproximativ 15-20 minute şi se repetă la fiecare $1\frac{1}{2}$ - 2 ore (Fig.11).

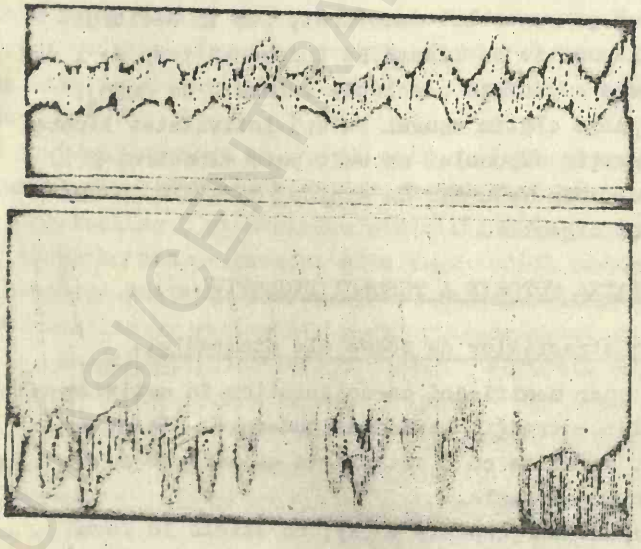


Fig.11.Sus=ritmul contracţiilor tonice ale stomacului la trei ore după masă.Jos-înscrierea momentului culminant al unei perioade de contracţii gastrice de foame.

La sfîrşitul experienţei se arată cînelui hrana atît în perioada de repaus gastric cît şi în timpul activităţii motorii.

Intrebări:Dacă la un cîine flămînd, injectăm 20 ml glucoză 40%, atunci contracţiile de foame dispar pentru un timp, cu toate că stomacul rămîne în continuare lipsit de alimente.Explicaţi mecanismul acestui fenomen.

B.Inregistrarea motilităţii intestinului subţire.

La nivelul intestinului pot fi deosebite contracţii tonice, segmentare,pendulare şi peristaltice.Pentru înregistrarea mişcărilor unei anse intestinale in vitro, cît şi influenţa unor substanţe asupra motilităţii, vezi lucrarea 13 Funcţiile de relaţie.

16.OBSERVAREA EXCRETIEI UNOR COLORANTI PRIN MUCOASA GASTRICA.

Pentru studierea funcţiei excretoare a stomacului, pot fi folosiţi diferiţi coloranţi (roşu-neutru,albastru de metilen,etc.).

Deoarece la om excreţia unor coloranţi (roşu-neutru), se desfăşoară în paralel cu secreţia gastrică, metoda cromoscopiei, adică observarea excreţiei coloranţilor în stomac, a primit o aplicabilitate clinică.

Material necesar: trusă de instrumente chirurgicale;roşu-neutru; soluţie heparină;atropina 0,1%; nembutal;seringă;canule;animal (şobolan,iepure,pisică).

Tehnica:Experienţa se efectuează pe animalul anesteziat.Se introduce în vena jugulară o canula umplută cu soluţie de heparină în ser fiziologic.Se deschide stomacul, se spală cu apă şi se prind marginile secţiunii de tegumentul secţionat.Injectăm prin canula 20-100 ml roşu-neutru.Se înregistrează timpul în care mucoasa gastrică se colorează în roşu.

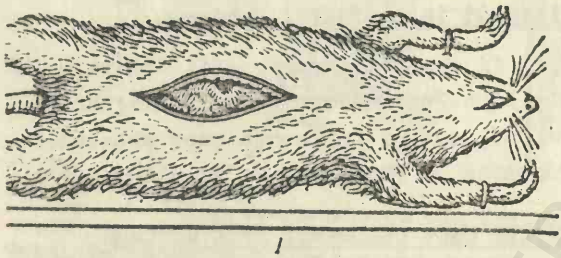
Se repetă experienţa pe alt animal, căruia în prealabil i s-a administrat 0,5-1 ml atropină i.m. sau după vagotomia bilaterală.

Recomandări: Se va desena schema experienţei, se vor nota fenomenele observate şi se vor formula concluziile.

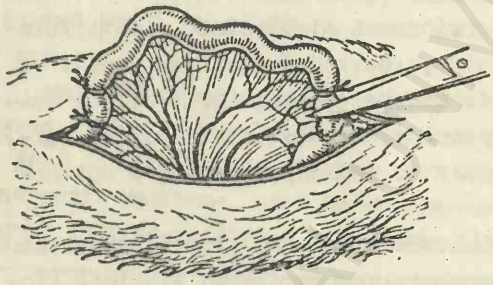
Intrebări:Explicaţi mecanismul modificării excreţiei colorantului dupa atropinizare sau vagotomie.Ce alte substanţe se excretă în diverse segmente ale tubului digestiv?

17. STUDIUL MECANISMULUI DE ABSORBTIE AL DIFERITELOR SOLUTII IN EXPERIMENT ACUT-EXPERIENTA LUI HEIDENHAIN.

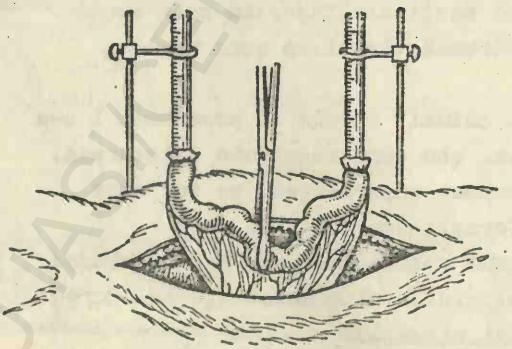
Absorbţia prin mucoasa gastrointestinală are loc prin transport activ sau difuzie.Pe scurt, transportul activ este un proces ce se desfăşoară cu consum de energie,substanţele fiind transportate prin membrane de la concentraţii mici spre concentraţii mari sau împotriva unui potenţial electric.Termenul difuzie presupune un transport simplu al substanţelor prin membrane, ca rezultat al mişcării moleculelor de-a lungul gradientului electrochimic.Absorbţia în organismul viu este reglată atît pe cale nervoasă cît şi umorală.Unele aspecte ale procesului de absorbţie, pot fi observate în experiment acut.



1



2



3

Fig.12.Schema experienţei lui Heidenhain.1-3=etapele experienţei.

Material necesar: trusă de instrumente chirurgicale;cronometru; stativ;aţă chirurgicală; tifon;comprese de tifon; canule;tub sticlă gradat;tub de cauciuc;cleme;robinet cu 3 căi; NaCl (5%;1,5%;0,9%); NaF 0,005%, şobolan.

Tehnica:La un şobolan anesteziat se izolează un segment de intestin subţire (10-15 cm),

în extremităţile căruia introducem cîte o canulă pe care o fixam (Fig.12).La capătul unei canule introducem un tub de cauciuc legat de o biuretă gradată, iar în cealaltă canulă aplicăm un tub de cauciuc cu o clemă.Spălăm intestinul.Se umple sistemul cu soluţie izotonică de NaCl şi se măsoară cantitatea absorbită timp de 5 minute.Se repetă experienţa cu celelalte concentraţii de NaCl.Repetăm experienţa după introducerea FNa.

Recomandări: 1- Datele obţinute se trec în tabelul de mai jos:

Concentraţia soluţiei	cantitatea de soluţie absorbită	Timpul
1.....		
2.....		
3.....		

2-Se vor analiza rezultatele obţinute.

Întrebări:Prin ce mecanism se absorb diferite substanţe? Ce se întîmplă cu peretele intestinal după introducerea FNa?

18.TRANSPORTUL ACTIV AL GLUCOZEI LA NIVELUL INTESTINULUI.

Transportul activ al glucozei şi galactozei la nivelul intestinului a fost demonstrat încă de C.F.Cori (1925).Transportul glucozei împotriva gradientului de concentraţie, este un proces specific, care se desfăşoară cu consum de energie.Energia este furnizată, de regulă, de ATP; acest transport este, deci, sensibil la inhibitori chimici, care blochează reacţiile celulare,furnizoare de energie.Transportul activ manifestă o inhibiţie competitivă şi este, probabil, mediat de transportor.Multe din informaţii, pe care le posedăm cu privire la mecanismul transportului activ, au fost furnizate de studiile efectuate privind absorbţia intestinală.Una din metodele folosite în acest scop, constituie tehnica sacului intestinal inversat, introdusă de Wilson şi Wiseman (1954).Descriem această metodă pentru studiul absorbţiei active a glucozei la vertebrate.

Principiu: intestinul este întors (suprafaţa mucoasei devine externă, iar seroasa priveşte spre lumenul intestinului).O porţiune de intestin întors este transformată într-un sac, ce se um-

ple cu soluţie fiziologică şi se incubează.Glucoza se deplasează prin transport activ în conţinutul sacului, realizînd final o concentraţie, care se estimează.

Tehnica:Se sacrifică un şobolan printr-o lovitură în cap sau printr-o uşoară anestezie cu eter.Se deschide abdomenul printr-o incizie mediană şi se secţionează intestinul, imediat posterior stomacului.La acest nivel se introduce o canulă ,pe care o legam strîns de intestin.Se racordează canula la un rezervor cu soluţie fiziologică.Se secţionează transversal intestinul la nivelul jonc-ţiunii ileo-cecale şi se spală conţinutul întregului intestin subţire cu NaCl 0,9%.Se separă cu atenţie intestinul de mezenter,după care îl introducem într-o tăviţă de disecţie, ce conţine soluţie fiziologică oxigenata continuu.

Se întoarce intestinul cu partea internă la exterior, folosind o baghetă de sticlă netedă, cu un diametru de aproximativ 1,5 mm şi o lungime de 25 cm, care are un şanţ circular la o distanţa de aproximativ 5 cm de un capăt.Capătul cu şanţ al baghetei, îl introducem într-o extremitate a intestinului, pe care îl legăm strîns, după care trecem la întoarcerea intestinului, cum se vede în Fig. 13.Operaţia trebuie sa se desfăşoare rapid, cu manipulări minime ale ţesutului,după care îl introducem din nou în soluţie fiziologică.

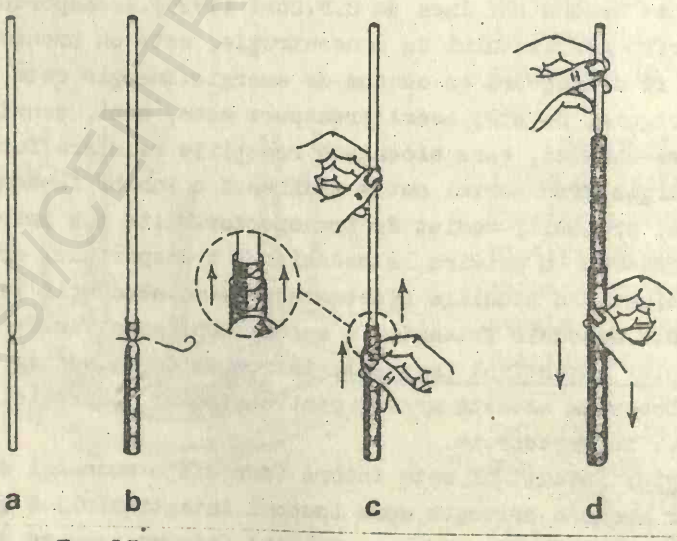


Fig.13.Inversarea suprafeţelor intestinului.

Prepararea sacilor şi incubarea:

Suprafaţa de mucoasa, expusă la exterior, se va manipula cu atenţie.Se va plasa intestinul pe o hîrtie de filtru, umectată bine cu soluţie fiziologică.Se va tăia în segmente de 5 cm lungime.Un capăt al fiecarui segment se leagă cu cîte un fir de aţă.Capătul opus al segmentelor se leagă cu o legatură uşoară.Introducem un ac cont prin acest capat şi injectăm un volum măsurat (0,5 ml) de soluţie adecvată (vezi mai jos) plus bule de aer.Firul de aţa se strînge în timpul injectării pentru a preveni vărsarea lichidului. După scoaterea acului se înnoadă strîns firul de aţă.Extremităţile mari ale ţesutului cît şi ale firelor se taie.Conţinutul fiecărui sac cît şi a mediului de incubare, este indicat mai jos:

Nr.	Exterior(suprafaţa mucoasei) volum 5 ml	Interior(faţa seroasă) volum 0,5 ml
1.	Krebs-fosfat-glucoză + O_2	Krebs-fosfat-glucoză
2.	idem	idem
3.	Krebs-fosfat-glucoză + +2-4 DNP + O_2	idem
4.	Krebs-fosfat-glucoză + +florizin + O_2	idem
5.	Krebs-fosfat-glucoză fără oxigen (anaerob)	idem

Se incubează sacii timp de o oră (90 minute dacă timpul ne permite) la 37°C într-o baie de apă.Se aranjează barbotarea oxigenului (sau a aerului) în soluţii (cu excepţia eprubetei 5), în care scop se recomandă ace hipodermice sau tub subţire de polietilenă.

Alt procedeu de incubare (Wiseman,1961).Se vor folosi baloane Erlenmeyer de 50 ml în loc de eprubete.Volumele sînt cele indicate mai sus.Se aplică cîte un dop de cauciuc cu 2 orificii, prin care aerăm flaconul timp de 1 minut cu un amestec gazos format din 95% O_2 + 5% CO_2.Se astupă flaconul şi se incubează o oră într-un incubator la 80 oscilaţii/ minut,amplitudinea 5 cm.

Colectarea probelor şi determinarea glucozei.

După terminarea incubării scoatem sacul din tub, apucînd cu o pensă de firul de aţă.Tamponăm pe o hîrtie de filtru pentru înlă-

turarea excesului de lichid.Se deschide un capăt al sacului şi se goleşte conţinutul într-o eprubetă mică.Se va presa uşor pentru a extrage tot lichidul.Se trece la determinarea concentraţiei finale a glucozei din interiorul şi exteriorul sacului cît şi concentraţia iniţială a mediului de incubare.Pentru determinarea glucozei, vezi anexe.

Recomandări: Se va calcula concentraţia finală în interiorul şi exteriorul sacului.Presupunînd că nu a avut loc o deplasare a lichidului, se va calcula cantitatea de glucoză transportată prin peretele intestinal / oră.Se vor explica efectele obţinute în modelele experimentale folosite.

Prepararea soluţiilor: Se prepară o soluţie de glucoză 1 M (180 g/litru), care se păstrează la rece.Inainte de folosire soluţia stoc se diluează cu soluţia Krebs-fosfat,ajustînd o concentraţie finală de 10 mM glucoză(180 mg/100 ml).Florizina şi 2-4 DNP se adaugă în probele indicate în concentraţia finală de 0,001 M.

19.DETERMINAREA VITEZEI DE ABSORBTIE A UNOR SUBSTANTE LA OM.

La om pot fi obţinute unele date,cu privire la viteza de absorbţie a diferitelor substanţe, prin experienţe efectuate pe noi.

Material necesar: eprubete;salicilat de sodiu;$FeCl_3$ 1%.

Tehnica: 1-Se administrează subiectului 0,5 g salicilat de Na înghiţit cu apa .După aceasta se colectează saliva la fiecare 2 minute, adăugînd la saliva colectată cîteva picături de FCl_3 1%. In momentul apariţiei salicilatului în salivă, apare o coloraţie violetă. 2-Se administrează 0,02 g acid nicotinic (vitamina PP). Se notează intervalul de timp după care apare o înroşire a feţei.

Intrebări: Care sînt procesele de bază, care determină la om viteza de absorbţie a substanţelor?

20.UNELE OPERATII PE TUBUL DIGESTIV.

1.Fistulă salivară cronică la cîine (după Pavlov).

Material necesar: cîine; masă de operaţie;instrumentar operator;aţă chirurgicală;ace de cusut;2-3 numere de sonde salivare; 10 cm^3 de morfină clorhidrică 2%; 50 ml amestec cloroform şi eter; mască;comprese şi tampoane de tifon.

Inainte de operaţie se injectează cîinelui o soluţie apoasă de morfină clorhidrică (2ml soluţie 1%/3 Kg s.c.).După 30 minute de la injectare se leagă cîinele pe masa de operaţie, cu faţa ventrală în sus.Pe falca cîinelui se rade părul.Pe timpul operaţiei se menţine narcoza inhalatorie (amestec eter:cloroform 2:1) care se picură periodic pe mască.

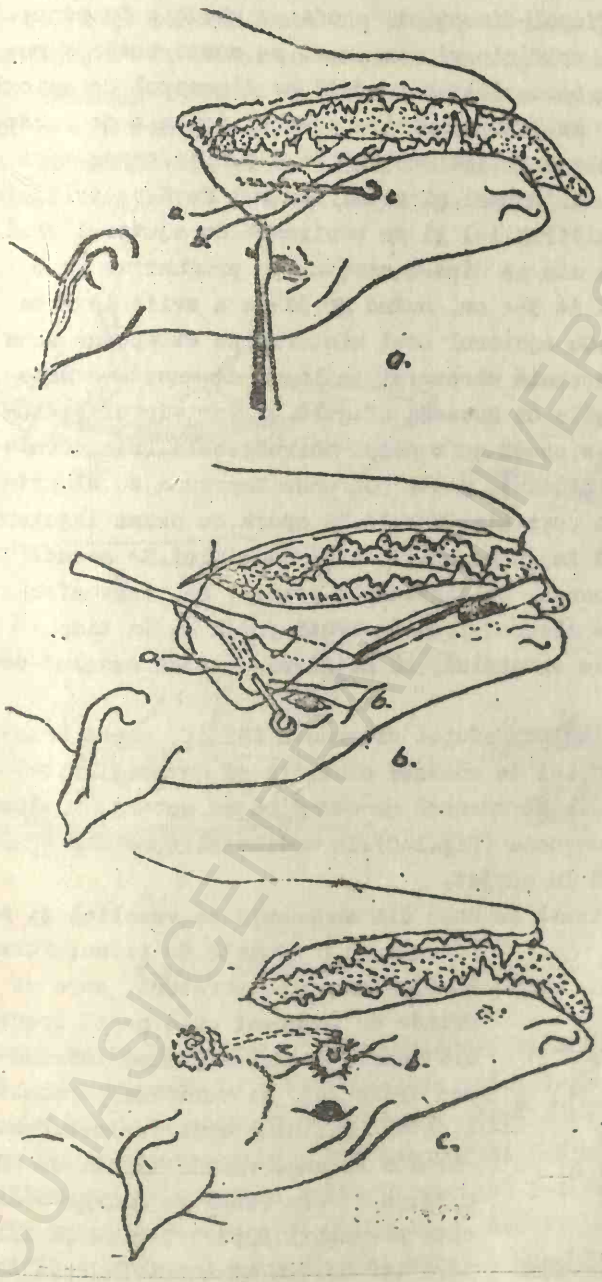


Fig.14.Fistula salivară la cîine.

Se trage cu mîna stîngă colţul buzei superioare şi răsfrîngînd-o pe deget, se caută orificiul canalului glandei salivare parotide.De obicei acesta se găseşte pe o mică papilă, care se poate distinge pe suprafaţa mucoasei în dreptul premolarului al 3-lea.In orificiul canalului (pe o adîncime de 3-5 cm)se introduce o sondă specială, subţire (Fig.15) pentru a evita lezarea canalului

în timpul operaţiei.Sonda se introduce la început perpendicular pe suprafaţa mucoasei, iar apoi se orientează pe traiectul canalului.

Fig.15.Canulă salivară.

Pe tot timpul disecţiei, sonda se găseşte în canal. In jurul orificiului canalului se conturează pe mucoasă cu bisturiul, o rondelă cu diametrul de aproximativ 10 mm.Prin marginile acestei rondele de mucoasă, se coase 2 fire subţiri în 2 puncte opuse (de obicei unul dorsal şi altul ventral faţă de orificiul canalului)(Fig.14) şi se excizează.Cu ajutorul unui foarfece mic se disecă canalul în profunzime pe o distanţă de 3-4 cm, avînd grijă de a evita lezarea vaselor.Cu ajutorul unui bisturiu se străpunge acum oblic peretele obrazului pe locul de unde s-a detaşat rondela de mucoasă (Fig.14 b) iar vîrful bisturiului se apucă cu o pensă chirurgicala.Prin scoaterea bisturiului, pensa patrunde împreuna cu el prin plaga în cavitatea bucala.Se apucă cu pensa legaturile aplicate pe mucoasă în jurul orificiului canalului.Se scoate sonda din canal, iar pensa, cu ligaturile prinse, se trage afară împreună cu rondela de mucoasă.Trebuie avută grijă ca în timpul scoaterii prin peretele obrazului, să nu se răsucească canalul salivar.

Se incizează pielea suprafeţei externe a fălcii, corespunzător dimensiunilor rondelei de mucoasă excizată şi de marginile pielei se prinde rondela de mucoasă cu 6-8 fire de sutură, inclusiv legăturile scoase cu mucoasa (Fig.14C).In cavitatea bucală plaga se închide cu o sutură în surjet.

Mucoasa exteriorizată se unge din abundenţă cu vaselină şi se acoperă cu o rondelă de tifon, formată din mai multe straturi, care se prinde de tegument cu o pastă specială (pasta Mendeleev).După terminarea operaţiei, se verifică permeabilitatea canalului exteriorizat.Pentru aceasta se unge vîrful limbii cu HCl 0,5%;dacă din canal se scurge saliva, este permeabil.După 2-3 zile se înlătură tifonul.In momentul în care dorim să colectăm salivă,fixăm cu pasta Mendeleev un dispozitiv special de recoltare(Fig 16).

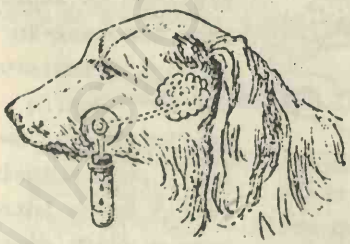


Fig.16.Fistula canalului glandei parotide.

2-Fistulă gastrică la câine (după Basov).

Material necesar: instrumentar chirurgical;canulă pentru fistulă;cîrlige pentru fistulă;cîmpuri;comprese de tifon sterilizate; tampoane;lichid dezinfectant;iod;alcool;penicilină.

Tehnica:operaţia se execută sub anestezie generală (morfină-eter-cloroform), cu respectarea cerinţelor de asepsie în pregătirea cîmpului operator.Pe linia mediană a abdomenului se face o incizie cu lungime de 6-9 cm (Fig.17a).Tesutul celulo-adipos properi-

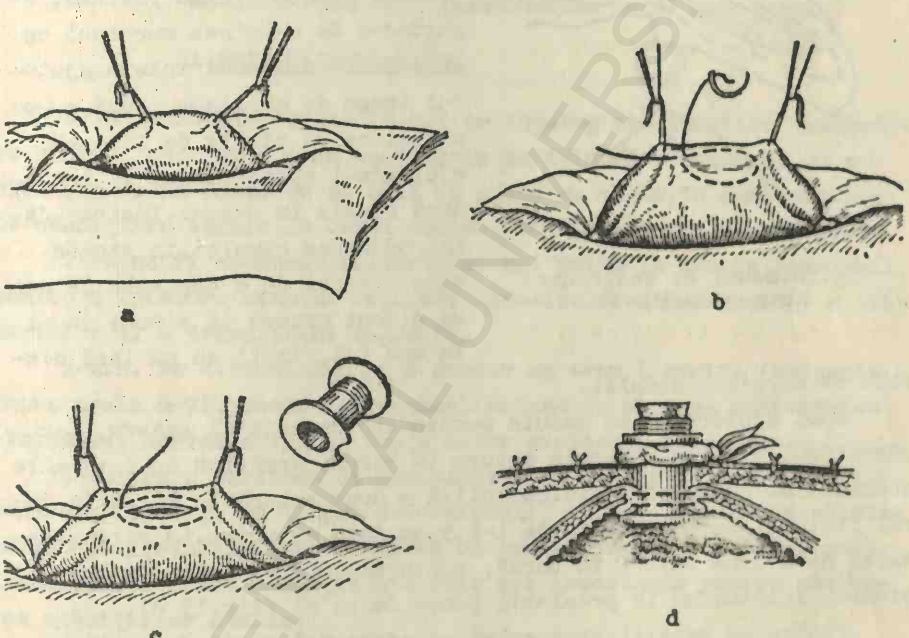


Fig.17.Schema instalării fistulei gastrice după Basov.
a-c=momente ale operaţiei.Explicaţia în text.

toneal se dă la o parte, sau, legîndu-l în colţul superior al plăgii, se excizează.Se exteriorizează prin plagă stomacul la suprafaţa pielii şi se acoperă cu comprese sterile.Pe suprafaţa anterioară a fundului stomacului, mai aproape de regiunea cardiei şi depărtîndu-ne de marginea curburii mari cu 3-4 cm, se aplică o sutură în bursă de acelaşi diametru ca şi canula pentru fistula.Aţa suturii trebuie să prindă numai stratul muscular, fără a trece prin mucoasă (acul trebuie să fie vizibil prin ţesut)(Fig.17b).

După aplicarea suturii în bursă, stomacul este apucat cu pensă mai jos de sutură. Cu un bisturiu ascuţit se taie stratul muscular la mijlocul axului longitudinal. Stratul submucos bombează în afară între marginile stratului muscular incizat. Ajutorul apucă cu o pensă Péan de mijlocul submucoasei şi trage în sus (Fig.18).

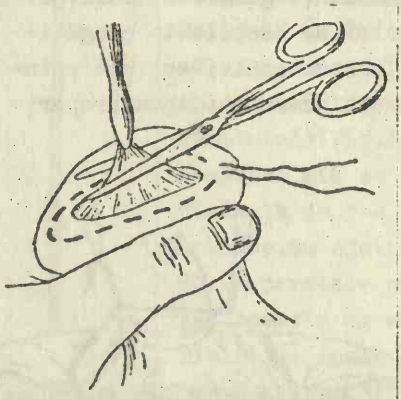


Fig.18. Modul de secţionare a mucoasei.

Operatorul taie bucata de mucoasă trasă de pensa Péan, cu ajutorul unei pense chirurgicale apucă marginea mucoasei, şi începe să introducă canula pentru fistulă, agăţînd-o de marginea mucoasei cu crestătura discului intern. Ajutorul trage de marginea opusă a mucoasei cu un cîrlig de fistulă, ajutîndu-i operatorului să introducă canula în stomac. Inainte de introducerea canulei în stomac este necesar de a deşuruba de pe ea discul extern şi a pune dopul în aşa fel, încît să nu iasă dincolo de marginea canulei.

Apoi ajutorul ţine canula suspendată de capătul extern, iar operatorul strînge puternic sutura în bursă, urmărind ca marginile mucoasei să nu apară afară. Se aplică a doua sutură în bursă în jurul fistulei la o distanţă de 1-1,5 cm faţă de prima. La strîngerea celei de a doua suturi în bursă, ajutorul înfundă puţin fistula în stomac, înlăturînd în prealabil pensa de pe el (Fig.17 d).

Pentru ca pereţii stomacului să adere mai rapid de peritoneul parietal, la nivelul fistulei se îmbracă marginea liberă a epiploonului mare şi se lasă stomacul în cavitatea abdominală. Fistula se coase la unghiul superior al plăgii abdominale. La început se coase peritoneul cu sutura în surjet (trebuie să urmărim ca marginile inciziei să adere strîns de canulă). Apoi, strat cu strat, cu surjet de aţă groasă, se închide stratul muscular şi cutanat.

Se îngurubează pe tub discul extern. Pentru garanţia contactului strîns al peretelui stomacului cu peretele cavităţii abdominale, după încheierea plăgii se înfăşoară în jurul canulei, între discul extern al fistulei şi suprafaţa pielii, o bandă de tifon, cu ajuto-

rul căreia stomacul este tras la peretele abdominal.După 24 ore se scoate tifonul, iar după 5-6 zile- firele de la piele.Se dă hrană lichidă începînd cu a 5^a-6^a zi postoperator.După 10-12 zile cîinele poate fi folosit pentru experienţe.

Intrebări de control:Ce metode chirurgicale se utilizează pentru studiul aparatului digestiv ?

CAPITOLUL III.

METABOLISMUL SI ALIMENTATIA.

21.METABOLISMUL BAZAL.

Prin metabolism bazal (M.B.) se înţeleg cheltuielile energetice minime, exprimate prin cantitatea de căldură produsă de un subiect, care cu toate că se află în stare de veghe,în rest păstrează condiţiile bazale.In cazul omului,condiţiile bazale presupun:

1-Să nu fi consumat alimente cu cel puţin 12 ore în prealabil, pentru a înlătura efectul acţiunii dinamice specifice (ADS) a alimentelor şi a travaliului digestiv.

2-M.B. se determină după o noapte de somn liniştit (obişnuit între orele 8-9), deoarece repausul reduce la minimum activitatea sistemului nervos simpatic sau a altor excitanţi metabolici.

3-Pentru o perioadă de aproximativ 30 minute înainte de determinare, precum şi în timpul determinării, subiectul trebuie să stea culcat confortabil, într-o cameră cu luminozitate redusă.Repausul fizic constituie o condiţie din cele mai importante pentru obţinerea condiţiilor bazale.

4-Toţi factorii fizici şi psihici, care provoacă o stare de excitare, trebuie să fie excluşi.

5-Temperatura camerei trebuie să fie în zona termică neutră. Scăderea temperaturii cauzează o intensificare a proceselor metabolice, în primul rînd prin intervenţia sistemului nervos simpatic. De asemenea, creşterea temperaturii, prin crearea stării de disconfort, transpiraţie şi alţi factori, intensifică metabolismul.

Cîteva procedee pentru măsurarea M.B.

Metabolismul bazal poate fi determinat prin metoda calorimetriei directe, care constă în măsurarea directă a cantităţii de căldură, produsă de un organism aflat în condiţii bazale.Metoda este folosită îndeosebi în scopuri experimentale.

Metodele calorimetriei indirecte se bazează pe determinarea căldurii produse, măsurînd intensitatea schimburilor respiratorii (cantitatea de O_2 consumată şi respectiv CO_2 degajată).Aceste metode au în vedere că peste 95% din energia cheltuită de organism, rezultă din reacţiile oxigenului cu diferite substanţe.Transformarea volumului de oxigen consumat, în calorii, se face pe baza cunoaşterii echivalentului termic al oxigenului, adică a cantităţii de căldură formată în urma arderii unui litru de oxigen.Echivalentul termic al oxigenului depinde de natura substratului care se metabolizează.El este egal cu 4,74 Kcal în cazul lipidelor; 4,46 Kcal pentru proteine şi de 5,05 Kcal, pentru glucide.Natura substratului,care se metabolizează în organism într-o perioadă dată, este indicată de valoarea coeficientului respirator, adică de raportul CO_2 expirat / O_2 inspirat.La un organism aflat în condiţii bazale coeficientul respirator este egal cu 0,82, iar echivalentul termic al oxigenului-4,825 Kcal. De aici rezultă că, la organismele aflate în condiţii bazale, în vederea calculării cantităţii de căldură produsă, este suficientă masurarea numai a O_2 consumat, fara a fi necesară cunoaşterea şi a volumului de CO_2 degajat.

In calorimetria indirectă sînt utilizate două tipuri de aparate: cu circuit închis şi cu circuit deschis.In prima metodă, subiectul respiră continuu aerul conţinut într-un sistem închis;CO_2 eliminat este absorbit de calcea sodată.In tipul de aparate cu circuit deschis, subiectul inspiră aerul din atmosferă şi expiră într-un recipient oarecare (sacul lui Douglas, spirometrul Tissot).Se masoară întreg volumul de aer expirat, iar o probă este analizată pentru a stabili conţinutul ei în CO_2 şi O_2.Printre aparate cu circuit închis se numara aceia al lui Benedict-Roth şi Krogh, care măsoară numai cantitatea de O_2 consumată.

Echipament necesar:aparatul de măsurare a metabolismului bazal (Krogh);piesă bucală;alcool; vată;pensă nazală;termometru de cameră;barometru.

Partea principală a aparatului (Fig.19) constă dintr-un spirometru (Fig 19,5,6).Clopotul spirometrului prezintă un sistem de contrabalansare, astfel că alunecă uşor în sus şi în jos în spaţiul dintre cei doi pereţi ai spirometrului.Acest spaţiu conţine apă, care serveşte drept sistem de închidere.În felul acesta sub

clopotul spirometrului se formează un sistem închis de aer, care comunică cu exteriorul prin intermediul a două tuburi cu lumen mare (inspirator şi expirator).Prin intermediul acestor tuburi se face legătura între subiect şi spirometru.Sensul circulaţiei aerului prin tuburi este dat de poziţia valvulelor.Aerul expirat este dirijat în compartimentul intern al spirometrului, care se umple cu un absorbant de CO_2(var sodat=calce sodată).După fixarea CO_2, restul gazelor trec sub clopotul spirometrului.

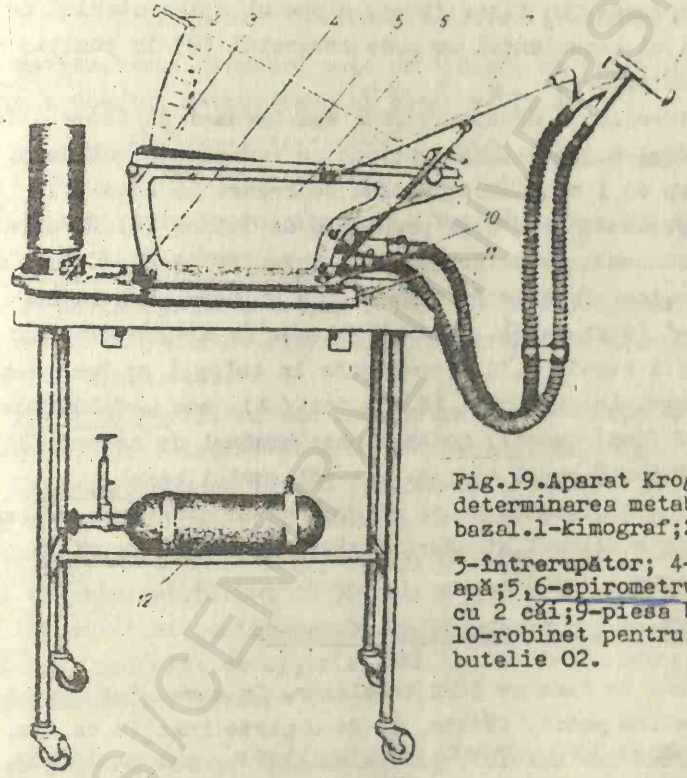


Fig.19.Aparat Krogh pentru determinarea metabolismului bazal.1-kimograf;2-peniţa; 3-întrerupător; 4-robinet apă;5,6-spirometru; 8-robinet cu 2 căi;9-piesa bucală; 10-robinet pentru O_2; 12-butelie O2.

Spirograma (înregistrarea mişcărilor respiratorii) se înregistrează pe o hîrtie specială care prezintă 2 scări (A şi B),etalonate în unităţi de volum.Liniile verticale marchează timpul în minute.Deplasarea hîrtiei este realizată de chimograf,care face o rotire completă în 10 minute.

Mod de lucru: Subiectul este aşezat în decubit dorsal pe o canapea, avînd o poziţie cît mai comodă.Prin intermediul piesei buca-

le (9), care a fost dezinfectată în prealabil, se face legătura între subiect şi tuburile flexibile ale spirometrului.Cît timp subiectul se odihneşte, se respiră din atmosferă (robinetul 8 se pune în poziţia de comunicare cu atmosfera).Introducem sub clopotul spirometrului O_2 (aproximativ 6 litri) şi aranjăm peniţa spirometrului (2) să fie în dreptul scării A de pe hîrtia de înregistrare a spirogramei.Se întrerupe respiraţia pe nas, prin aplicarea unei pense nazale; cu ajutorul robinetului (8) se face comunicarea subiectului cu spirometru şi se porneşte kimograful.Pe măsură ce oxigenul a fost consumat,CO_2 fiind fixat, clopotul spirometrului coboară.La sfîrşitul experienţei se pune robinetul (8) în poziţia de comunicare cu exteriorul.

Unim printr-o linie dreaptă vîrful spirogramei şi facem diferenţele scărilor:A-B. Rezultatul obţinut ne indică numarul de ml O_2 consumat timp de 1 minut.Acest volum se reduce la condiţii standard (temperatura de 0^oC şi presiunea de 760 mm Hg).In acest scop înmulţim consumul de oxigen obţinut anterior (A-B) cu un factor de corecţie,luat funcţie de temperatura şi presiunea la care s-a experimentat (vezi tabel 1 anexe).Volumul de oxigen consumat, redus la condiţii standard,îl transformăm în calorii pe baza echivalentului termic al oxigenului (4,825 Kcal/ 1), sau , folosindune de tabelul 2 (vezi anexe), notăm direct numărul de calorii/24 ore.Valoarea obţinută arată mărimea metabolismului bazal.

In clinică metabolismul bazal se exprimă în diferenţe procentuale faţă de metabolismul standard.Deviaţii de $\pm$ 10% intră în limitele de eroare a metodei.

Calculul metabolismului standard.

Acest calcul se face pe baza tabelelor, în care sînt cuprinse valorile statistice medii, făcute, pe de o parte funcţie de sex, înălţime şi vîrsta subiectului, iar pe de altă parte- funcţie de greutatea corpului (vezi anexele).

Exemplu de calcul al metabolismului bazal.

S-a experimentat pe un bărbat, în greutate de 65 Kg, înălţimea 170 cm şi vîrsta 30 ani.Temperatura camerei era de 20^oC, iar presiunea- de 750 mm Hg.Din tabelul 1 se scoate factorul de corecţie care este egal cu 0,919.

Diferenţa A-B era de 214ml = volumul de O_2 consumat timp de 1 minut la 20°C şi 750 mm Hg. 214 X 0,919 = 197 =volumul de oxigen consumat la 0°C şi 760 mm Hg.

Din Tabelul 2 aflăm că 197 ml O_2 corespund la 1369 Kcal/24 ore.Valoarea obţinută reprezintă valoarea absolută a M.B.

Pe baza tabelelor lui Harris-Benedict (vezi anexe) calculăm valoarea standard a metabolismului bazal.

Greutatea de 65 Kg .....960 Kcal/24 ore
Vîrsta/ înălţime (30/170).....648 Kcal/ 24 ore
Valoarea standard.....1608 Kcal/24 ore

Metabolismul standard este considerat ca fiind 100%.In cazul nostru procentul metabolismului bazal va fi de:

1608.....100%
1369.....X $\quad X=\frac{1369 \times 100}{1608} = 85\%$

Diferenţa faţa de metabolismul standard este de: 100-85= 15%
Deci metabolismul bazal = -15%

In unele cazuri se obţin valori ale metabolismului bazal mai mari decît cele ale metabolismului standard, de exemplu 140%. In acest caz M.B.= +40%.

Recomandări.Spirograma înregistrată se va fixa în caietul de referate.Se va calcula valoarea metabolismului bazal.

Intrebări:Cum se va modifica valoarea metabolismului bazal în cazul în care temperatura mediului ambiant era mai scazută? La care din persoanele indicate mai jos, nivelul metabolismului bazal va fi mai ridicat:bărbat de 30 ani,în greutate de 76 Kg şi înălţime 176 cm şi respectiv femeie de 36 ani, înălţime 156 cm,greutate 61 kg? Care sînt condiţiile fiziologice ce influenţează valoarea metabolimului bazal?

22.DETERMINAREA METABOLISMULUI ENERGETIC LA ANIMALE. (METODA ANALIZEI COMPLETE A GAZELOR).

In cazul în care organismul nu se află în condiţii bazale, pentru a afla valoarea metabolismului, este necesară cunoaşterea atît a O_2 consumat cît şi a CO_2 degajat.Transformarea volumului de oxigen consumat, în Kcal, se face pe baza echivalentului termic al oxigenului, corespunzător coeficientului respirator dat.

Echivalentul termic al oxigenului funcţie de valoarea coeficientului respirator (CR)

CR	Calorii/ litru O_2	CR	Calorii/ litru O_2	CR	Calorii / litru O_2	CR	Calorii/ litru O_2
0,707	4.686	0,78	4.776	0,86	4.875	0,94	4.973
0,71	4.690	0,79	4.788	0,87	4.887	0,95	4.985
0,72	4.702	0,80	4.801	0,88	4.899	0,96	4.998
0,73	4.714	0,81	4.813	0,89	4.911	0,97	5.010
0,74	4.727	0,82	4.825	0,90	4.924	0,98	5.022
0,75	4.739	0,83	4.838	0,91	4.936	0,99	5.035
0,76	4.751	0,84	4.850	0,92	4.948	1,00	5.047
0,77	4.764	0,85	4.862	0,93	4.961		

Echipament necesar: camera respiratorie;interferometru sau alt echipament pentru analiza completă a gazelor;termometru de cameră;barometru;cuşca pentru animalul de experienţă;balanţă; animal(cobai,şobolan,etc.)

Camera respiratorie (Fig.20) reprezintă un sistem închis de aer, realizat de introducerea capacului într-un jgheab umplut cu apă.In cazul în care dorim să menţinem animalul de experienţă un timp mai îndelungat sub observaţie, sînt necesare camere respiratorii mai mari.Termostatarea camerei poate fi realizată , formînd pereţi metalici dubli, între care circulă apa la o anumită temperatură.Camera prezintă orificii, la care se adaptează ermetic un termometru, sau se realizează legătura cu spirometru în vederea menţinerii presiunii constante, cît şi un orificiu prin care se uniformizează aerul din cameră înaintea luării probei de analizat.Tot prin acest orificiu se pompează aerul din cameră respiratorie în interferometru.

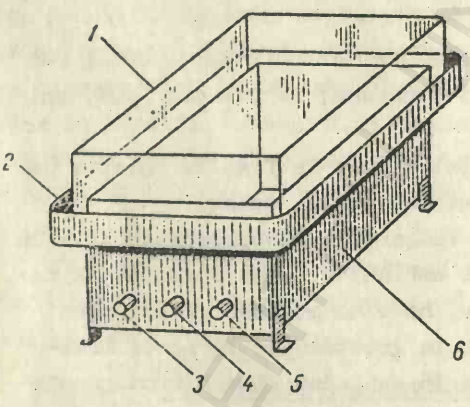


Fig.20.Camera respiratorie.
1 - capac din plexiglas;2-jgheab;
3 - 5-tuburi pentru termometru. spirometru şi pentru uniformizarea aerului din cameră.

Interferometru este un aparat, care permite determinarea concentraţiei unor gaze (în cazul dat a O_2 + CO_2) pe baza indicelui de refracţie a luminii.Tubul interferometrului prezintă de regulă trei camere, în care se dirijează cu ajutorul unui tablou

de comandă aerul uscat (trecut în prealabil prin H_2SO_4 şi $CaCl_2$) şi cu o anumită compoziţie.Astfel în camera 1 se introduce aerul atmosferic fără CO_2 şi apă; în camera 2 se introduce aerul din camera respiratorie fără CO_2 şi apă, deci cu un deficit de O_2.Prin compararea camerei 1 cu 2 se determină deficitul de O_2.

In camera 3 se introduce aerul din camera respiratorie fara apă.Prin compararea camerei 2 cu 3 se află surplusul de CO_2.

Tehnica: Animalul cîntărit se introduce în camera respiratorie. El va fi închis într-o cuşcă de plasa, pentru a-i limita deplasările.Se notează ora, temperatura şi presiunea aerului atmosferic. Durata experienţei este între 10 minute-24 ore, funcţie de mărimea camerei şi a animalului.Cu cîteva minute înainte de determinare a compoziţiei aerului din camera respiratorie, se uniformizează aerul din cameră cu ajutorul unei pere de cauciuc (sau a unui ventilator montat în cuşcă).La timpul necesar, se pompează aerul din camera respiratorie în camerele interferometrului şi se determină concentraţiile O_2 şi a CO_2.Se face aceeaşi operaţie şi pentru analiza aerului atmosferic.

Exemplu de calcul.

P=750,2 mmHg
Temperatura atmosferei=24,5°C
Temperatura camerei respiratorii=25°
Greutatea animalului=3,6 Kg
Greutatea cuştei din Fe=7,2 Kg
Volumul spirometrului=14,7 l
T° 1+2 =24,4°C

volumul camerei=800 l

Citiriie la interferometru

Felul aerului	Oxigen camera: 1-2	bioxid de carbon 2-3	ora
atmosferic initial	18/19	70/70	0
din camera respiratorie	61/60/61	294/295	12
atmosferic	17/17	71/72	12

Volumul respirator al camerei respiratorii:800 l+ 14,7 l= =814,7 l. Volum dislocat:3,6 l(din greutatea animalului) + 1 l(din greutatea şi densitatea cuştei)=4,6 l.

Volum final=814,7-4,6= 810,1 l.

Factorul de corecţie al volumului camerei la presiunea şi temperatura dată este de 0,873 (vezi anexele aparatului)

Volumul aerului corectat: 810,1 X 0,873 =708,2 litri.

Indicele de refracţie O_2: 60,7(media citirilor din cameră)minus
17,8(media compoziţiei atmosferei)

42,9

Idem pentru CO_2: 294,5-
70,75

223,75

Se face corecţia interferometrului pentru temperatura de 0°C şi presiunea de 760 mmHg.Factorul = 1,105 (Tabel 32.12.45 de la interferometru).

Se inmulţeşte valoarea obţinută la diviziuni cu factorul:

42,9 X 1,105 = 47,4 O_2 = T_1 (denumirea după tabelul 6 b)

223,75 X 1,105 = 247,3 CO_2 =T_2 (idem).

Folosind tabelul 6 a (anexa la interferometru) se află procentul de scădere a O_2,astfel:47,4 diviziuni = 4,16% O_2 consumat.

Procentul de CO_2 se calculează din tabelul 6b.T_1 în tabel corespunde cu numărul de diviziuni pentru oxigen,citite la interferometru, deci; 47,4, iat T_2 corespunde cu numărul de diviziuni citite pentru CO_2.Din suprapunerea celor 2 citiri, rezultă procentul de CO_2.In cazul exemplului de mai sus obţinem 3,17 % CO_2.Deci la sfîrşitul experienţei în camera respiratorie a rezultat următoarea compoziţie:

Oxigen	CO_2	N_2
20,93- 4,16 16,77 %	3,17 %	80,06 %, rezultat din suma %O_2 +CO_2 scăzut din 100

Cantitatea totală a CO_2, O_2 şi a N_2 din cameră, era de:

$$CO_2=\frac{3,17 \times 708,2}{100} = 22,48 \text{ litri}$$

$$O_2=\frac{16,77 \times 708,2}{100} = 118,9 \text{ litri}$$

N_2= 708,2-(118,9+22,48)=566,82 litri. Volumul de azot rezultat, ne permite aflarea volumului aerului iniţial, azotul neparticipînd în procesul respirator:

100 ml aer conţin 79,03 N_2

X .....566,82 mlN_2

X=716,5 l aer iniţial în camera respiratorie.

Se calculează volumul CO_2 şi a O_2 din aerul atmosferic iniţial: $CO_2 = \frac{0,04 \times 716,5}{100} = 0,287$ l $\quad O_2 = \frac{20,93 \times 716,5}{100} = 150$ litri.

Volumul de gaz schimbat în respiraţie:

CO_2: 22,48 -0,287 l=22,193 litri degajaţi.

O_2: 150-118,9 = 31,1 l consumaţi în 12 ore.

Coeficientul respirator: 22,19 : 31,1 = 0,713

Echivalent termic al oxigenului = 4,7 Kcal/ litru

Recomandări: Cunoscînd greutatea animalului (3,6Kg) şi timpul cît a durat experienţa (12 ore), se va calcula metabolismul energetic în Kcal/Kg/oră.

Intrebări: Cum va fi coeficientul respirator la răpitori comparativ cu animalele ierbivore? Cum se modifică coeficientul respirator în perioada de îngrăşare a animalelor?

23. INFLUENTA TEMPERATURII MEDIULUI INCONJURATOR ASUPRA METABOLISMULUI LA ANIMALELE POIKILOTERME SI HOMEOTERME

Prin această lucrare se urmăreşte modul de modificare a reacţiilor metabolice la animale poikiloterme şi homeoterme, funcţie de temperatura mediului ambiant.

Echipament necesar: acelaşi ca şi la lucrarea 22 şi în plus 2 camere respiratorii de volum redus; gheaţă, broască; goarece.

Mod de lucru: Se măsoară temperatura, presiunea şi compoziţia gazelor în camera respiratorie. Se cîntăresc animalele (de dorit să fie de aceeaşi greutate) şi se introduc în cîte o cameră respiratorie. Se notează timpul începerii experienţei. După 20 minute se determină consumul de oxigen şi volumul de CO_2 degajat, folosind procedeul descris la lucrarea 22. Se calculează metabolismul energetic. După aceasta răcim camerele respiratorii (pe timp de iarnă le punem pe geam pentru 20 minute sau aplicam gheaţă în jurul lor). Se notează temperatura camerei respiratorii şi se măsoara din nou compoziţia aerului din cameră. Se calculeaza metabolismul energetic.

De observat scăderea intensităţii metabolice la animalele poikiloterme şi creşterea la homeoterme.

24. ALCATUIREA RATIILOR ALIMENTARE.

Alimentaţia ştiinţifică are în vedere acoperirea necesităţilor organismului cu substanţe plastice şi energetice, asigurarea activităţii normale a organismului, a capacităţii de activitate, iar la copii- o creştere şi dezvoltare normală.

Normele fiziologice de nutriţie au în vedere vîrsta, sexul, înălţimea şi greutatea corporală, caracterul muncii cît şi condiţiile geografice. La omul matur necesităţile energetice depind, îndeosebi, de felul activităţii pe care o prestează. După acest criteriu populaţia matură se împarte obişnuit în 4 grupe:

Necesităţi energetice (Kcal/24 h) la persoane de diferite profesii:

Grupa	Tipul de activitate	Kcal.
I	Persoane, ce prestează o activitate intelectuală: profesori, medici, ingineri, funcţionari, etc.	3000-3200
II	Persoane ce lucrează în întreprinderi mecanizate: strungari, frezori, textilişti, şoferi automobile uşoare.	3.500
III	Persoane angajate în activitatea fizică din întreprinderi mecanizate sau parţial mecanizate: lăcătuşi, fochişti, lucrători în CAP, etc	4.000
IV	Persoane ce prestează muncă fizică grea: hamali, săpători, etc.	4.500-5.000

Pentru aprovizionarea organismului cu substanţe energetice, se folosesc de regulă substanţe alimentare, ce conţin glucide, lipide şi proteine în anumite proporţii. Celor 4 grupe de profesii se recomandă următorul regim alimentar:

Grupa	Conţinutul în alimente (g)/24 h		
	Proteine	Lipide	Glucide
I	109	106	433
II	122	116	491
III	141	134	558
IV	163	153	631

Material necesar: tabele cuprinzînd compoziţia chimică a alimentelor şi valoarea calorică a acestora /100 g.

Mod de lucru: Raţia alimentară se alcătuieşte cu ajutorul unor tabele speciale (vezi anexe), care cuprind conţinutul procentual în grăsimi , proteine,glucide cît şi valoarea calorică.

La întocmirea raţiei alimentare trebuie avut în vedere ca numărul de calorii al raţiei, să acopere cheltuielile energetice zilnice (metabolismul bazal la care se adaugă:acţiunea dinamică specifică a alimentelor; un coeficient de circa 10% legat de prepararea alimentelor; coeficienţi legaţi de utilizarea digestivă şi îndeosebi,energia necesară activităţii musculare).Pentru fiecare grupă trebuie avută în vedere proporţia optimă în glucide, proteine, lipide.Se recomandă un regim alimentar administrat de 4 ori pe zi. Primul mic dejun va cuprinde 25-30% din toată raţia zilnică; al doilea mic dejun- 10-15%; prînzul- 40-45%,iar cina - 15-20%.Produsele bogate în proteine (carne, ouă, peşte) se recomandă a fi folosite pentru mic dejun şi prînz.. Cina va fi servită cu precadere din lactate şi vegetale.Peste 1/3 din proteine şi lipide, care pătrund în organism, vor fi de origine animală.

Raţia alimentara trebuie să conţină vitamine, săruri minerale şi apă.Inainte de alcătuirea raţiei alimentare, se trasează tabelul:

Regim alimentar	Denumirea produsului	Greutatea g	Conţinutul produsului în g: proteine	lipide	glucide	Kcal
Primul mic dejun						
Al 2-lea mic dejun						
Prînzul						
Cina						
Cantitatea generală						

CAPITOLUL IV
EXCRETIA

Funcţia de excreţie asigura eliminarea din organism a produşilor inutili şi toxici, contribuind prin aceasta la menţinerea homeostaziei mediului intern.Organul cel mai important cu funcţie excretorie este rinichiul, însă în realizarea ei participă şi alte sisteme funcţionale:aparatul respirator, glandele sudorale, ficatul, glandele digestive.

Formînd urina, rinichiul îndeplineşte o serie de funcţii foarte importante pentru organism:1-elimină substanţele inutile şi toxice, rezultate din metabolimul proteinelor (uree, acid uric, creatinină,etc.); 2-contribuie la menţinerea reacţiei acido-bazice a mediului intern; 3-constanţa presiunii osmotice a sîngelui este menţinută datorită capacităţii rinichiului de a elimina apa sau sarurile în exces; 4-menţine concentraţia relativă şi absolută a constituenţilor normali ai plasmei sanguine, prin reabsorbţia selectivă a substanţelor cu prag (glucoză, acizi aminaţi, vitamine, etc); 5-rinichiul are şi rol endocrin prin secreţia reninei de către aparatul juxtaglomerular.Intervine parţial în producerea eritropoietinei precum şi a urokinazei, un activator al fibrinolizei.

Testele funcţiei renale pot fi divizate în 3 categorii: 1-determinarea clearancelui renal; 2-masurarea concentraţiei sanguine a substanţelor, ce sînt excretate în mod normal prin rinichi şi 3-analizele chimice şi fizice ale urinei.

25.CLEARANCE-UL INULINEI CA MASURA A RATEI DE FILTRARE GLOMERULARA.

Coeficientul de iepurare (clearance) a unei anumite substanţe, reprezintă volumul de plasmă, care a fost purificat de substanţă respectivă în unitate de timp.Clearance-ul plasmatic al oricărei substanţe, poate fi calculat cu ajutorul formulei:

$$\text{Clearance plasmatic (ml/min.)} = \frac{\text{cantitatea de urină(ml/min) Xconc. din urină}}{\text{concentraţia din plasmă}}$$

Clearance-ul diferitelor substanţe poate fi determinat prin măsurarea simultană a concentraţiei substanţei din plasmă şi din urină.

Inulina este un polizaharid, care se caracterizează pe de o parte prin aceea că nu se reabsoarbe la nivelul nefronului, iar pe de altă parte, fiind de greutate relativ mică (aproximativ 5.200) se filtrează la nivelul membranei glomerulare cu aceeaşi uşurinţă cu care se filtrează substanţele cristaloide sau apa.De asemenea, inulina nu se secretă în mod activ la nivelul tubilor.De aici rezultă că filtratul glomerular conţine inulina în aceeaşi concentraţie ca şi plasma.Tot filtratul glomerular format, este purifi-

cât de inulină, volumul lui final fiind egal cu volumul plasmatic ce a fost iepurat de inulină.Deci, clearance-ul plasmatic pe minut al inulinei este egal cu rata de filtrare glomerulară.

De exemplu, să presupunem că în plasmă concentraţia inulinei este de 0,1 g/ 100 ml, iar în fiecare minut trec în urină 0,125 g de inulină.Rezultă că în fiecare minut se formează 125 ml de filtrat glomerular, această cifră alcătuind în acelaşi timp coeficientul de iepuraţie plasmatic al inulinei.

Dozarea inulinei cu rezorcină (metoda Roe-De Kruhoffer).

Reactivi:1-Rezorcină-tiouree:rezorcină 0,1 g, tiouree 0,25 g, acid tricloracetic 10%,100 ml.Se conservă în flacon închis. 2-HCl (d=1,10) 5 părţi, apă distilată o parte. 3- standard de inulină concentraţie 1mg/ml.Se diluează 1:50 pentru a obţine o soluţie de lucru de 0,02 mg/ml. 4-Soluţia A:$ZnSO_4.7H_2O$ 10%.Soluţia B: NaOH 0,5 N.Aceste 2 soluţii trebuie să se neutralizeze volum la volum în prezenţa fenolftaleinei.

Recoltarea probelor: Se recoltează 5 ml sînge pe 1-2 picături de heparină, constituind proba în alb de sînge P_0.Se evacuează vezica, se păstrează urina, ca probă în alb a urinei U_0.Se administrează 10 g inulină în injecţie unică sub formă de soluţie inulină 10% timp de 5-10 minute.Prima perioadă de clearance începe 30 minute mai tîrziu, timp necesar distribuirii inulinei în volumul circulant.Recoltările se efectuează în 2 perioade a cîte 20 minute fiecare (la 30 minute de la injectare se evacuează vezica, se aruncă urina, la 40 minute se recoltează sîngele (5 ml) P_1, la 50 minute urina U_1, la 60 minute P_2, la 70 minute U_2).Se măsoară volumul fiecărei porţiuni de urină şi se calculează debitul/ minut=

$$\frac{V}{20 \text{ min.}} = d$$

Tehnica dozării: 1 ml plasmă sau 1 ml urină diluată (1:100 sau 1:200) este deproteinizat, respectiv defecat, adăugînd 15 ml apă distilată, 2 ml soluţie A şi 2 ml soluţie B.După 10 minute se centrifughează, sau se filtrează.La 2 ml filtrat adăugăm 1 ml reactiv rezorcină şi 7 ml HCl.In paralel se pregăteşte un standard,conţinînd 2 ml soluţie inulină 0,02 mg/ml şi o probă în alb a reactivilor cu 2 ml apă distilată.Se adaugă apoi cîte 1 ml rezorcină şi 7 ml HCl.Probele se pun la baie, la 80°C timp de 10 minute pentru

hidroliză (inulina este hidrolizată în fructoză).Se scot, se răcesc şi după 5 minute se citesc extincţiile la 520 nm (fructoza dă cu rezorcină reacţia Selivanoff, al cărui produs este colorat roşu portocaliu).

Standardul este citit faţă de proba cu apă (proba în alb a reactivilor), sîngele faţă de proba martor de sînge P_o, iar urinile faţă de U_o.

$$\text{Calcul: Inulina mg\%} = \frac{\text{Ex. probei}}{\text{Ex. standard}} \times 40$$

La urină înmulţim rezultatul obţinut cu diluţia (100 sau 200).

$$\text{Clearance}_1 \text{ inulină} = \frac{U_1 \times d_1}{P_1} \qquad \text{Clearance}_2 \text{ inulină} = \frac{U_2 \times d_2}{P_2}$$

(U= concentraţia în urină mg/ml; d=debit ml/min;P=concentraţia în plasmă mg/ml).

$$\text{Clearance inulină ml/min} = \frac{Cl_1 + Cl_2}{2}$$

La persoanele sănătoase clearance-ul inulinic este 130 ml/min$\pm$ 30.

Recomandări: Se vor nota valorile obţinute.

Întrebări de control:Ce alte substanţe pot fi folosite pentru măsurarea ratei de filtrare glomerulare? Care sînt factorii, care influenţează volumul filtratului glomerular? Ce calităţi trebuie să îndeplinească o substanţă, care solvită fiind în plasma, să poată fi folosită pentru determinarea debitului circulator renal ?

26.STUDIUL EXCRETIEI URINEI IN EXPERIMENT CRONIC

Folosind acest model experimental se va studia influenţa unor factori asupra excreţiei urinei prin uretere.

Echipament necesar: trusă de instrumente chirurgicale;comprese;vată;fire;alcool;eter;cîine.

1.Operaţia de scoatere a ureterelor pe peretele abdominal.

Operaţia se efectuează pe cîine în condiţii sterile sub narcoză cu eter.In porţiunea posterioară a abdomenului se secţionează peretele abdominal pe linia mediană pe o lungime de 8-10 cm. Se identifică şi se scoate vezica urinară din cavitatea abdominală. Se separă uretra pe o distanţă de 2-3 cm şi o legăm prin 2 ligaturi

stabile.Secţionăm uretra între ligaturi.Se invaginează bontul periferic în care scop se aplică o sutură cu catgut la o distanţă de 8-10 mm de ligatură.Se tamponează mucoasa bontului cu tinctură de iod, se înfundă în interiorul uretrei cu ajutorul unei pense anatomice şi se strînge cu catgut.Se caută ureterele pe părţile posterolaterale ale vezicii urinare.Se secţionează vezica urinară pe linia mediană în aşa fel încît ureterele să apară deconectate.In jurul orificiului fiecărui ureter lăsăm porţiuni din peretele vezicii cu diametru de 2-2,5 cm.La nivelul peretelui abdominal în marginea externă a muşchilor drepţi se practică 2 incizii mici în aşa fel încît să ne permită suturarea fragmentelor de vezică cu uretere secţionate.Se scot ureterele prin incizie, împreună cu fragmentul de perete vezical.Se suturează ureterele de marginile secţiunii tegumentare.Se suturează fiecare strat de la nivelul secţiunii abdominale:peritoneul şi muşchii, prin sutură cu fir continuu, iar tegumentul şi stratul subtegumentar adipos, prin sutură cu fire separate.Suturile se tamponează cu soluţie de iod, iar suprafaţa tegumentului în jurul ureterelor se usucă cu tampoane şi se unge cu vaselină.

Ingrijire postoperatorie: In primele 3 zile cîinele va fi hrănit cu lapte şi pîine, după care se dă hrană obişnuită.Pentru a diminua efectul excitant al urinei, care se excretă continuu prin uretere, cîinele va fi ţinut pe un aşternut gros din rumeguş, care constituie un bun absorbant al urineiSuprafaţa secţionată şi zona ureterelor se va spăla regulat cu apă călduţă şi o soluţie slabă de acid boric şi se va unge cu un strat subţire de vaselină borică.

2.Studiul influenţei unor factori asupra diurezei.

Pe timpul efectuării acestei părţi de lucrare, se fixează la nivelul deschiderii ureterelor cîte o eprubetă pentru colectarea volumului de urină.

A.Influenţa încărcării cu apă asupra diurezei.
Se fixează cîinele într-un stativ şi se introduce prin intermediul unei sonde în stomac, apă la temperatura de 20-25°C (20-60 ml/Kg). Se notează volumul de urină la fiecare 30 minute.Diureza atinge un maxim cam după 30-90 minute, după care scade treptat, revenind la valoarea de control după circa 3 ore.

B.Influenţa administrării ureei asupra diurezei.

Se injectează în stomacul cîinelui o soluţie de uree 20-25%, în cantitate de 0,8-1 g uree/kg.Creşterea diurezei apare după 15-20 minute, atingînd maximum după circa 30 minute, iar după aproximativ 2 ore revine la normal.

C.Influenţa excitării dureroase sau emoţionale asupra diurezei

Se aplică un excitant dureros (curent electric) sau provocăm o excitare emoţională (arătăm o pisică).Diureza se întrerupe brusc şi lipseşte uneori un timp îndelungat (20-60 minute).

Recomandări: Rezultatele obţinute se vor reprezenta grafic, trecînd pe ordonată volumul urinei în ml, iar pe abscisă-timpul în minute.De subliniat latenţa şi durata de acţiune a factorului studiat.

Intrebări: Explicaţi mecanismul prin care cei trei factori experimentaţi mai sus,afectează funcţia rinichiului.

27.VACUOLELE CONTRACTILE.

Protozoarele de apă dulce, ca de exemplu Paramecium caudatum, sînt continuu invadate de apă,datorită conţinutului osmotic ridicat al lichidelor sale biologice.Excesul de apa, care pătrunde în organismul protozoarului, este eliminat prin vacuolele contractile. In experimentul descris mai jos, se va observa că: 1-odată cu scăderea diferenţei osmotice, dintre mediul extern şi intern, ca urmare a creşterii concentraţiei mediului extern, activitatea vacuolelor contractile diminuează, deci travaliul efectuat de vacuole, depinde de gradientul osmotic; 2-activitatea vacuolelor, are loc cu consum de energie, deoarece folosirea cianurilor, elimină activitatea lor.Cianurile blochează fosforilările oxidative, prin acţiunea lor asupra sistemului citocromic; ducînd prin aceasta la epuizarea rapidă a rezervelor de ATP.

Material necesar: culturi de Paramecium;lichid de cultură; apa de mare (2,5%;5%;7,5%, 10%); lichid de cultură +KCN M/500 (13mg/100ml);microscop;roşu-neutru (10mg/100 ml apă).

Mod de lucru:Pe o lamă de microscop se pune o picătură de lichid de cultură, ce conţine mai multe exemplare de Paramecium. Se va utiliza obiectivul şi ocularul 10X.Pentru a diminua mobilitatea animalului, lama de microscop poate fi umectată sub forma unui frotiu cu metilceluloză (1%), în vederea măririi vîscozităţii picăturii de lichid, ce se va aplica.In acelaşi scop poate fi folo-

sită şi vata absorbantă.

Se vor examina vacuolele contractile.Sînt aceste structuri temporare sau permanente?Vacuolele anterioare şi posterioare se contractă simultan? Cu aceeaşi frecvenţă? In timpul deplasării animalului, vacuolele pulsează?Conţinutul vacuolei este acid sau alcalin? Ca indicator se va folosi roşu-neutru (virează în galben în mediu alcalin;în mediu acid rămîne roşu).

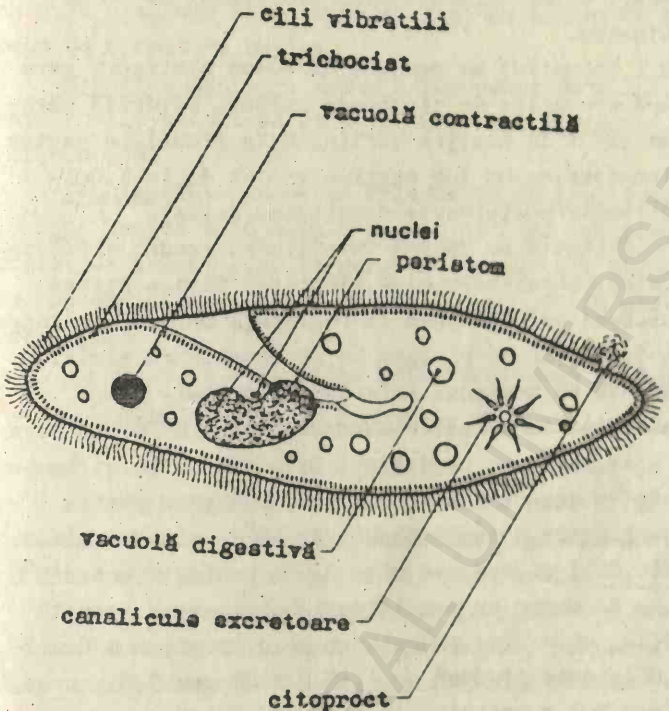


Fig.21.Paramecium caudatum.

Se va determina frecvenţa de pulsaţie în următoarele soluţii:a-lichid de cultură; b-apă distilată; c-apă marină 2,5%;5%;7,5%;10%; d-lichid de cultură plus KCN M/500.
Pentru a obţine concentraţia aproximativ dorită, se va amesteca o picătură de lichid cu parameci plus o picătură de lichid de concentraţie dublă, celei dorite final.

Frecvenţa de pulsaţie a vacuolelor este de 6-10 / minut în lichidul de cultură; valorile cresc în apa distilată şi scad în apa sărată.

Recomandări: Rezultatele se vor reprezenta grafic, trecînd pe ordonată frecvenţa de contracţie a vacuolelor, iar pe abscisă-salinitatea.Se vor trage concluzii cu privire la rolul vacuolelor contractile.

28. COMPOZITIA URINEI

A. DENSITATEA URINEI.

Material necesar: urină filtrată; cilindru gradat de 50 ml; termometru; urodensimetru.

Urodensimetru (urometru) se compune dintr-un plutitor, care la partea inferioară are alice de plumb sau mercur, datorită cărora aparatul este menţinut în poziţie verticală în lichid. La partea superioară se prelungeşte cu un tub subţire gradat de la 1,001-1,060. Intre aceste limite poate varia densitatea urinei.

Tehnica: urina filtrată se toarnă în cilindru gradat şi se introduce în ea urometru, care trebuie să plutească fără a atinge pereţii cilindrului. Dacă există spumă la suprafaţa urinei, se îndepărtează cu hîrtia de filtru. Se citeşte pe urodensimetru diviziunea, care este tangentă cu meniscul inferior al urinei.

Urodensimetrele sînt de obicei etalonate pentru 15°C (temperatura de etalonare este indicată pe aparat). De aceea se ia şi temperatura urinei, făcînd o corecţie a densităţii, adăugînd pentru fiecare depăşire cu 3 grade a temperaturii de 15°C, cîte o unitate la ultima zecimală (0,001) şi scăzînd cîte 0,001 pentru fiecare 3°C sub 15°C. Pentru a ne da seama ce semnificaţie poate avea această corecţie a densităţii, este bine să reţinem că o creştere a densităţii urinei cu 0,001, este produsă de 1,47 g NaCl sau 3,6 g uree, sau 2,7 g glucoză, sau 3,9 g proteine la litru de urină.

Interpretare: In mod normal urina din 24 ore are o densitate cuprinsă între 1,015-1,025. Densitatea scade în poliurie şi creşte în oligurie. In condiţii patologice densitatea urinei creşte în cazuri de febră, boli cardiace, diabet zaharat.

Densitatea urinei constituie un indicator al capacităţii de concentrare a rinichiului, fiind scăzută în insuficienţa renală.

B. Sodiul şi potasiul.

Ambii ioni pot fi determinaţi flamfotometric (vezi volumul I), făcînd aceeaşi diluţie a urinei ca şi la sînge.

Valorile normale variază funcţie de natura alimentaţiei. In regim desodat Na se găseşte în cantitate de 400 mg/24 ore (170 mEq/24 ore). Eliminările de K sînt de 25-100 mEq/24 ore.

C.Clorul.Metoda Mohr.

Principiu:clorurile sînt titrate în mediu neutru sau slab acid cu azotat de argint N/10.Ca indicator se utilizeaza cromatul de K, care în prezenţa unui exces de ioni de orgint dă un precipitat roşu de cromat de argint.

Material necesar: $AgNO_3$ N/10;cromat de K 10%, soluţie tampon acid acetic-acetat de sodiu,pH,6,5, 0,1 M;pipete; pahare Erlenmeyer;biuretă.

Tehnica:Intr-un pahar Erlenmeyer se iau lo ml urină, 2ml soluţie tampon acid acetic-acetat şi 1 ml indicator.Se titrează cu azotat de argint pînă la persistenţa culorii cărămizii a cromatului de argint.Se notează numărul de ml „N" de azotat de argint folosiţi.

Calcul: 1 ml $AgNo_3$ N/10 corespunde la 0,00584 g NaCl.

NaCl g/litru= N.0,00584 x 100.

In cazul unei diete obişnuite, cantitatea de cloruri urinare este cuprinsă între 10-15 g/litru.După cîteva zile de dietă fără sare cantitatea clorurilor scade sub 1 g/l şi poate creşte peste valorile normale la un regim hiperclorurat.

Valori crescute se întîlnesc în poliurie, crize post-infecţioase.Valori scăzute apar în pneumonii, perioada formării edemelor, insuficienţă cardiacă, insuficienţă renală.

D.Dozarea fosfaţilor.

Material necesar:acetat de uranil:3,2 g acetat de uranil plus 0,6 ml acid acetic glacial solviţi în 100 ml soluţie.;acetat-acid acetic: 100 g acetat de sodiu plus 30 g acid acetic glacial în 1000 ml soluţie; ferocianura de potasiu 10%; capsulă de porţelan;pipete; biuretă;placa de porţelan.

Principiu: fosfaţii din urină se precipită cu o sare de uran, după reacţia:$UO_2(CH_3COO)_2 + Na_2HPO_4 = UO_2PO_4H + 2CH_3COONa$.Cînd reacţia nu mai are loc, sarea de uran dă în prezenţa ferocianurei de potasiu o coloraţie brun-roşcată.

Tehnica: într-o capsulă de porţelan se pipetează 5 ml urină plus 0,5 ml acetat-acid acetic şi se încalzeşte pînă la fierbere, amestecînd cu o baghetă.Se înlătură flacăra şi se adaugă dintr-o biuretă cu picatură soluţie uranică.Pe o placă de porţelan se pun

picături mici de indicator (ferocianură de K).Din timp în timp, se scoate bagheta şi se aduce o picătura de soluţie de analizat în contact cu indicatorul.Titrarea este terminată cînd indicatorul se colorează în brun-roşcat şi se notează numărul „N" de ml acetat de uranil folosit.

Calcul: N x 100 = mg P_2O_5 %.

Eliminarea zilnică de acid fosforic variază între 1-5 g/litru

E.Dozarea ureei cu hipobromit.

Material necesar:hidroxid de sodiu 20%;fenolftaleină; soluţie uree 2%;hipobromit de sodiu (vezi mod de preparare); microazotometru Ambard;pipete; vas mare cu apă.

Prepararea hipobromitului de sodiu:Intr-o capsulă mare de porţelan se dizolvă 300 g NaOH în 1000 ml apă distilată.După răcirea soluţiei se pune capsula într-un cristalizator cu apă curgătoare şi se adaugă cîte puţin 50 g brom lichid, amestecînd în permanenţă cu o baghetă de sticlă.Operaţia se face sub nişă, din cauza vaporilor de brom, care sînt foarte iritanţi.După adăugarea întregii cantităţi de brom şi răcirea soluţiei, se păstrează reactivul în sticlă brună şi la întuneric.Reactivul se menţine peste o lună.

Principiu:sub acţiunea hipobromitului, ureea este descompusă în N_2 şi CO_2.Azotul se degajă liber şi poate fi măsurat volumetric, iar CO_2 este fixat sub formă de carbonat.După cantitatea de azot degajat se calculează cantitatea de uree:

$CO(NH_2)2 + 3NaBrO + 2NaOH = N_2 + Na_2CO_3 + 3NaBr + 3H_2O$

Microazotometru Ambard: este format din 2 vase (A şi B) care comunică între ele printr-un robinet (Fig 22).La baza vasului B se aplică un deget de cauciuc elastic.Pentru omogenizare vasul B conţine cîteva bile de sticlă.

Fig 22

Tehnica:Pipetăm în vasul A 0,25 ml urină, adăugăm o picătură de fenolftaleină şi NaOH pînă la alcalinizarea mediului. Deschizînd robinetul lăsăm soluţia să curgă în B, după care se închide robinetul.Se spală vasul A cu 3 cm apă.Se deschide robinetul şi se lasă apa să curgă în B. Prin împingerea degetului de cauciuc se elimină orice bulă de aer, după care se în-

chide robinetul.Se pipetează în vasul A un ml hipobromit şi deschizînd cu grijă robinetul se lasă să se scurgă în B, avînd grijă de a evita pătrunderea aerului în B.Se închide imediat robinetul şi se agită aparatul cîteva minute.Azotul format este trecut pentru citire în tubul gradat C, care a fost umplut în prealabil cu apă. Operaţia se face într-un vas cu apă.

Pentru standard folosim 0,25 ml uree 2%, care va fi prelucrată ca şi urina.

Se notează cu V volumul azotului rezultat din urină şi V_1 - N_2 rezultat din uree.

Calcul: $\frac{V}{V_1}$ x 2 = grame uree/ 100 ml urină.

Valori normale:15-35 g/litru.In diabet eliminarea de azot este foarte crescută (90-115 g), iar în insuficienţa renală sau hepatică azotul urinar scade.

F.Proteinele.

In mod normal urina nu conţine decît urme de proteine în cantitate de 20-40 mg/l ,care nu se pot decela prin tehnicile uzuale.

Analizele se fac pe urină clară.Urina tulbure se centrifughează sau se filtrează.Tulbureala datorită uraţilor se elimină prin încălzire uşoară.

Proteinurii patologice apar în afecţiunile renale, boli ale căilor urinare, stări febrile, intoxicaţii, boli cardiace, icter.

Reacţii de identificare a proteinelor urinare.Proba cu acid sulfosalicilic.

Material necesar:acid sulfosalicilic 20%;eprubete;pipete;urină.

Tehnica: Se pipetează într-o eprubetă aproximativ 5 ml urină şi se adaugă 5-10 picături de acid sulfosalicilic.Se agita uşor şi se lasă în repaus 10 minute, după care se compară cu eprubeta ce conţine numai urină.Funcţie de cantitatea de proteină prezentă, apare o tulbureală sau un precipitat.Dacă tulbureala persistă la încălzire, sînt prezente proteinele; dacă dispare la încălzire, sînt prezente albumozele.Este o probă foarte sensibilă (detectează 0,015 g% proteine).

Proba cu acid tricloracetic.

Reactivi: acid tricloracetic 10-20%

Tehnica: Se iau într-o eprubetă aproximativ 5 ml urină, peste care se adaugă 1 ml acid tricloracetic.Formarea unui precipitat alb floconos indică prezenţa proteinelor.

Dozarea semicantitativă Esbach.

Principiu:cu ajutorul albuminometrului Esbach se determină cantitatea de precipitat obţinut prin tratarea urinei cu reactiv Esbach.In această metodă urina trebuie să fie acidă, de aceea dacă este necesar se va acidula cu acid acetic 10%.Se utilizează o urină cu densitate 1,008, făcînd la nevoie diluţia necesară, de care se va ţine seama la calcul.

Reactivi:reactiv Esbach: acid picric 10 g, acid citric 20 g, clorură ferică 10% .

Tehnica: în albuminometru Esbach (Fig 23) se introduce urină pînă la semnul U şi apoi reactiv Esbach pînă la semnul R, se închide cu un dop de cauciuc, se agită bine şi se lasă în repaus 24 ore.Se citeşte înălţimea precipitatului, diviziunile exprimînd grame proteine la 1000 ml urină. Cînd concentraţia în proteină este mai mare de 4 g/ l , urina trebuie diluată cu apa distilată. Se va ţine seama de diluţia făcută.

Reactivul Esbach precipită alături de proteine şi albumoze, mucoide, acidul uric,alcaloizii, urotropina.

Modificări ale metodei Esbach. Se introduce urina pînă la semnul U şi se adaugă 10 picături clorură ferică 10%.Se adaugă reactivul Esbach pînă la R. Se amestecă şi se pune la baie de apă la 72°C cîteva minute, după care se poate citi rezultatul.

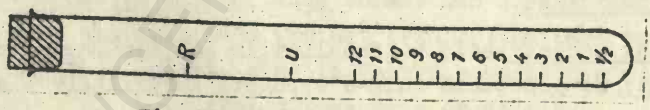


Fig.23.Albuminometru Esbach.

G.Glucidele urinare.

Obişnuit glucidele urinare se evidenţiază pe baza proprietăţii reducătoare a acestora faţă de sărurile unor metale (Cu,Bi) în soluţii fierbinţi. Pe lîngă glucide în urină se mai pot afla şi alte substanţe reducătoare:glucuronidele,acid uric, uraţii,fenolii, acidul ascorbic, acidul saliciluric.De asemenea,urina pacienţilor, ce primesc doze mari de penicilină, streptomicină, oxitetraciclină etc.,poate reduce sărurile metalelor indicate.

In mod normal se găsesc urme de glucoză în urină, dar cantitatea lor poate creşte după îngerarea unor cantităţi mari de glucide.

Glicozuriile patologice sînt caracteristice pentru diabetul zaharat.Pentru reacţiile calitative se utilizează urina de la o singură emisie, iar pentru determinările cantitative, urina din 24 ore, păstrată la rece pe un conservant, care nu interferează în reacţie.Probele de orientare se fac pe urina nedefecată, deoarece dacă proba este intens pozitivă, defecarea devine inutilă.Dacă reacţia este neconcludentă, se lucrează pe urină defecată.Determinările cantitative se fac numai pe urină defecată.

Defecarea urinei: Operaţia se efectuează în vederea înlăturării altor substanţe reducătoare din urină cu excepţia glucidelor.

Reactivul Courtonne: 100 g acetat de plumb şi apă distilată ad 1000 ml; se adaugă acid acetic pînă la neutralizare (în prezenţa indicatorului) apoi se filtrează.

Tehnica:Se iau într-un cilindru 45 ml urină şi 5 ml reactiv Courtonne, se agită cu o baghetă, se lasă să se depună precipitatul şi se filtrează.Datorită diluării urinei cu reactiv Courtonne, la dozarea glucidelor prin metoda Fehling se va utiliza factorul 1,1 pentru corecţie.

Evidenţierea calitativă a glucozei urinare.

Reacţia Fehling.

Principiu: hidroxidul cupric, rezultat în urma reacţiei dintre sulfatul de cupru şi alcali , este redus în oxid cupros în prezenţa grupării carbonilice ,aldehidice sau cetonice a glucidelor.

In prezent se consideră că reacţia Fehling nu este suficient de specifică pentru a fi utilizată pentru depistarea glicozuriei. Singură metodă specifică este metoda enzimatică cu glucozooxidază.

Reactivi: Reactivul Fehling I şi II.

Tehnica: Se iau într-o eprubetă 2 ml reactiv Fehling I şi 2 ml reactiv Fehling II şi se fierb, pentru a controla reactivii (nu trebuie să se schimbe culoarea albastră).Se adaugă apoi 5 ml urină şi se continuă fierberea.Apariţia unui precipitat roşu-cărămiziu indică prezenţa glucidelor urinare.

Reacţia Benedict.

Principiul este similar cu cel al reacţiei Fehling, dar pentru solvirea precipitatului de hidroxid cupric se utilizează citratul de sodiu.Prezintă avantajul faţă de reacţia Fehling, deoarece ne dă indicaţii aproximative cu privire la cantitatea de substanţe reducătoare prezente în urină.

Reactivi: Reactivul Benedict:se dizolvă 100 g carbonat de Na anhidru şi 173 g citrat de sodiu ($Na_3C_6H_5O_6 \cdot 2H_2O$) în aproximativ 700 ml apă distilată.Se dizolvă 17,3 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ în circa 100 ml apă distilată şi se adaugă la soluţia de carbonat-citrat sub agitare constantă.

Tehnica:se pun într-o eprubetă 0,5 ml urină şi 5 ml reactiv Benedict.Se amestecă şi se pune într-o baie de apă la fierbere timp de 5 minute.Se lasă să se răcească la temperatura camerei.Rezultatul se interpretează după tabelul următor:

Culoarea	Rezultatul	Substanţe reducătoare.
albastră	negativ	absente
albastru-verzui	urme	urme
verde	+	circa 0,5%
brun- verzui	++	circa 1,0%
galben	+++	circa 1,5%
roşu-cărămiziu	++++	circa 2,0%

Reacţii fals pozitive pot da şi alte substanţe reducatoare (în special acidul ascorbic).

Dozarea glucozei urinare.
Metoda Fehling

Principiu:se determină iniţial cantitatea de substanţe reducătoare, necesară pentru a reduce un anumit volum de soluţie Fehling, cu alte cuvinte se stabileşte titrul soluţiei Fehling.Cunoscînd titrul soluţiei, se va titra cu urină pînă la reducerea completă a aceluiaşi volum de reactivi.Cantitatea de glucoză prezentă în volumul de urină folosit la titrare, este identică cu titrul soluţiei Fehling.Concentraţia glucozei se exprimă în g/ 1000 ml urină.

Reactivi: soluţia Fehling I şi II;glucoză 1%; ferocianură de potasiu 5%.

Tehnica: 1-Determinarea titrului soluţiei Fehling:într-un pahar Erlenmeyer se iau 5 ml Fehling I şi 5 ml Fehling II plus

2,5 ml ferocianură de K.Se aduce la fierbere direct pe flacără sau pe o sită de asbest.In prealabil se pune într-o biuretă soluţia de glucoză 1% şi se lasă să picure în Erlenmeyer picătură cu picătură, după fiecare adăugare fierbîndu-se din nou.Titrarea se continuă pînă cînd soluţia devine galben aurie, dispărînd culoarea albastră.Daca se depăşeşte acest punct de viraj prin adăugarea unei cantităţi prea mari de glucoză,apare o coloraţie brună închisă şi reacţia trebuie repetată.

Observaţii:1-Este foarte important ca la început şi la sfîrşit, lichidul din biuretă să se adauge numai cu picătura, pentru a nu depăşi zona de viraj. 2-Soluţia să fie în fierbere tot timpul. 3-Reacţia să se facă rapid pentru a nu permite reoxidarea cuprului redus de glucoză. 4-Se fac cel puţin 3 probe paralele.

Calcul: Se notează cu N numărul de ml glucoză 1%, folosiţi la titrare.Titrul soluţiei Fehling = N.10 mg.

2.Dozarea glucozei urinare.

Se procedează identic ca la stabilirea titrului soluţiei Fehling.Se titrează cu urina defecată, după fiecare picătură de urină adăugată în amestecul soluţiei Fehling, se aduce la fierbere.Titrarea continuă pînă în momentul cînd soluţia nu mai este albastră, ci galben aurie.Se notează cu N numărul de ml utilizaţi la titrare.

Calcul: $\frac{\text{Titrul Fehling}}{N} \times 1{,}1 = \text{g. glucoză /litru.}$

1,1 este factorul de corecţie pentru diluarea urinei cu reactivul Courtonne.

Recomandări: Se vor nota valorile obţinute şi se vor compara cu valorile normale.

Intrebări: Care este compoziţia chimică a urinei? De ce apare glucoza în urină? Ce indicaţii cu privire la funcţia rinichiului, ne dă prezenţa proteinelor în urină? Cum se reabsorb proteinele din urina primară?

CAPITOLUL V.

FIZIOLOGIA SISTEMULUI ENDOCRIN.

Glandele cu secreţie internă, prin hormonii pe care îi secretă, îndeplinesc roluri multiple în organism.Hormonii participă în organogeneză, în metabolismul substanţelor, în reglarea şi coordonarea activităţii tuturor sistemelor şi organelor.

Sistemul endocrin funcţionează într-o strînsă legătură cu sistemul nervos central, influenţîndu-se reciproc şi realizînd împreună un tip major de integrare.

Rolul sistemului endocrin poate fi explorat prin urmărirea efectelor produse la nivelul diferiţilor parametri ai organismului în urma excesului sau a deficitului de hormoni.Modificarea concentraţiei hormonilor din glande şi sîngele circulant, poate fi realizată prin extirparea glandelor, prin folosirea unor substanţe, ce blochează specific secreţia şi / sau eliberarea anumitor hormoni, ca urmare a leziunilor specifice produse, sau inhibare prin mecanism feed-back.

Afectarea funcţiei unei anumite glande, poate fi explorată prin metode histologice ale glandei respective sau prin dozări ale hormonilor produşi de glandă.Dozările hormonilor pot fi făcute prin metode diferite, funcţie de natura chimică a hormonului:metode chimice,biologice,imunologice,etc.Aceste metode diferite de dozare, de multe ori se completează reciproc.

In cele ce urmează vor fi descrise cîteva tehnici folosite în explorarea funcţiei sistemului endocrin.

29.SUPRARENALECTOMIA LA SOBOLAN.

Steroizii secretaţi de către corticosuprarenală, sînt esenţiali pentru viaţa organismului animal.Dacă se opreşte secreţia, ca urmare a bolii Addison sau prin suprarenalectomie bilaterală, apar cîteva modificări fiziologice caracteristice:modificarea metabolismului glucidic; oboseala musculară; scăderea greutăţii corporale; leziuni gastrointestinale; sensibilitatea mărită la stress; pierderea capacităţii de menţinere a temperaturii corpului; diminuarea consumului de alimente; excreţia mărită de Na asociată cu retenţia K;deshidratarea organismului şi final moartea.

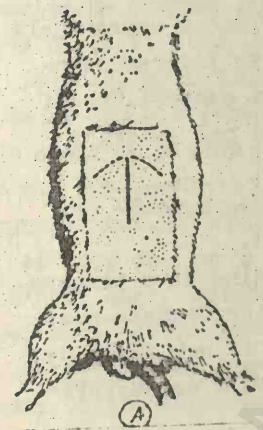
In vederea studierii simptoamelor şi efectelor suprarenalecto-

miei, este necesară extirparea completă a glandei.Orice urmă de suprarenală sau ţesut cortical rămas după operaţie, poate regenera o corticosuprarenală funcţională.De aceea orice concluzie, bazată pe experienţe efectuate pe animale suprarenalectomizate, trebuie să fie precedată de o examinare atentă a animalului pentru validarea absenţei ţesutului corticosuprarenal.

Procedeul chirurgical este relativ simplu la majoritatea animalelor de experienţă, cu excepţia păsărilor, la care glandele suprarenale sînt alipite de vena cavă.

Echipament necesar: masă de operaţie pentru animale mici; trusă chirurgicală;eter;tinctură de iod;aţă chirurgicală;şobolan.

Tehnica: Şobolanul se anesteziază cu eter, după care se aranjează pe masa de operaţie cu partea ventrală în jos şi nasul expus spre anestezic.Se tunde sau se smulge părul de pe partea dorsală



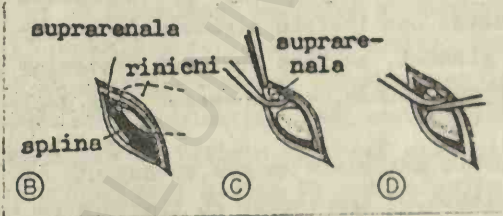


Fig.24 Suprarenalectomia la şobolan.

A-D= etapele succesive ale operaţiei.

Punctat=ultima pereche de coaste.

a animalului în zona ultimei perechi de coaste, după care se unge tegumentul cu tinctură de iod.

Folosind drept reper ultima pereche de coaste, se face o incizie a tegumentului (8-10 mm) pe linia mediana deasupra coloanei vertebrale, care va fi deplasată succesiv spre stînga şi spre dreapta în vederea extirpării glandelor din partea respectivă (Fig. 24).Se va evita secţionarea muşchilor din jurul coloanei vertebrale.

Cu un foarfece de iris se face o secţiune oblică în stratul muscular la nivelul unghiului format de ultima coastă şi muşchiul lung spinal;introducînd vîrful foarfecelui în secţiune şi prin deschiderea lui, mărim deschiderea secţiunii.In profunzimea plăgii

se observă o parte de rinichi, iar glanda suprarenală se va observa la polul anterior al rinichiului.Cu o pensă curbată se apucă grăsimea perirenală şi se trage cu atenţie prin plagă.Grăsimea de sub glanda suprarenală se apucă cu o pensă curbată, iar cu o altă pensă se detaşează grăsimea dintre rinichi şi suprarenală, după care se smulge uşor glanda împreună cu ţesutul adipos ce o înconjoară.De regulă nu apar hemoragii.Trebuie evitată strîngerea suprarenalei, deoarece este foarte fragilă şi se rupe uşor, ceea ce duce la o suprarenalectomie incompletă.Glanda excizată se plasează pe o hîrtie de filtru umectată şi se inspectează pentru a ne convinge de extirparea ei completă.Din acest moment trebuie să fim mai atenţi la reacţia animalului la eter, animalul devenind mult mai sensibil.

In aceeaşi manieră se trece la extirparea glandei suprarenale stîngi.In acest caz incizia stratului muscular, în vederea exteriorizării glandei, se face ceva mai posterior şi central.Uneori pentru a expune glanda, este necesar de a deplasa mai anterior splina.

Straturile musculare se cos cu catgut, iar tegumentul- cu aţă chirurgicală.Se tamponează cu tinctură de iod.

Tratament postoperator.Sobolanii se vor menţine la o temperatură a camerei ceva mai ridicată decît a animalelor normale.Dieta va fi bogată în glucide, iar soluţia de băut va fi sub formă de NaCl 1%.De ce? La autopsie se vor verifica resturile de suprarenală.

Supravieţuirea şobolanilor suprarenalectomizaţi este influenţată de dietă, mediu, fondul genetic, sexul şi vîrsta animalului. Ea poate varia de la cîteva zile pînă la 3 sau 4 săptămîni, uneori şi mai mult.

Intrebări de control: Ce grupe de hormoni produce glanda suprarenală şi care este rolul lor fiziologic?

30.TESTUL THORN.

Activitatea fiziologică a corticosuprarenalei poate fi evaluată prin proprietatea corticosteroizilor de a scădea numărul de eozinofile din sîngele circulant (eozinopenia).Intre nivelul eozinofilelor circulante şi ritmul circadian al ACTH-ului şi indirect

al corticosteroizilor suprarenali, există o relaţie inversă.In perioada stressării organismului,eozinofilele scad mult, ceea ce constituie,de asemenea, un indiciu indirect al activării corticosuprarenalei.

Echipament necesar:microscop; echipament necesar pentru numărarea leucocitelor;ACTH.

Tehnica: Subiectului,aflat în condiţii bazale,se recoltează sînge din deget în 2 pipete: pentru numărarea leucocitelor în general şi pentru numărarea eozinofilelor (vezi vol.1 lucrarea 5).Se calculează numărul de leucocite şi eozinofile dintr-un mm^3 de sînge.

După recoltarea primei probe de sînge se administrează 25 U corticotropină i.m.După un interval de 4 ore se ia din nou sînge din deget pentru numararea eozinofilelor şi a numărului global de leucocite.Se compară numărul de eozinofile înainte şi după administrarea de corticotropină şi se calculează scăderea procentuala.

In cazul unei funcţii normale a corticosuprarenalei, după 4 ore de la administrarea a 25 U corticotropină , numărul eozinofilelor scade cu 60-70% (testul Thorn pozitiv).Dacă eozinofilele scad sub 50%, aceasta constituie un indiciu al insuficienţei corticosuprarenalei.Determinarea numărului global de leucocite în acest caz, se face cu scopul de a determina procentul de scădere globală a eozinofilelor, comparativ cu numărul total de leucocite / mm^3 sînge, care suferă variaţii foarte mari.

Intrebări: Ce teste cunoaşteţi pentru explorarea funcţiei glandei corticosuprarenale?

31.DETERMINAREA PRODUCTIEI IN VITRO A GLUCOCORTICOIZILOR.

Rata de secreţie in vitro a corticosteronului de către glandele suprarenale, pare a fi în raport cu cantitatea de corticotropină legată de glanda în momentul extirpării acesteia.Conform părerii mai multor cercetători, această metoda reprezintă un indice simplu şi precis al determinării cantităţii de corticotropină circulantă.

Material necesar:spectrofluorimetru în ultraviolet;balanţă de torsiune;incubator de ţesuturi (tip Dubnoff sau aparat Warburg); eprubete de incubare;eprubete cu dop rodat;seringă;centrifugă; frigider;soluţie Krebs-Ringer-bicarbonat;glucoză;diclormetan;

soluţie de corticosteron; amestec gazos (95% O_2 + 5% CO_2);şobolan.

Tehnica:şobolanii se sacrifică prin decapitare.Suprarenalele se colectează într-o cutie Petri la ghiaţă.Se curăţă de ţesutul adipos, se cîntăresc la balanţa de torsiune, se secţionează cu foarfece în 4 părţi şi se pune la incubat pentru 1 oră.

Ca mediu de incubare se utilizează soluţia Krebs-Ringer-bicarbonat la pH 7,4 (2 ml), la care se adaugă 200 mg glucoză la 100 ml soluţie.Se incubează în incubator la 37°C sub agitare continuă, iar faza gazoasă sub clopotul aparatului este preferat să fie formată din 5% CO_2 şi 95% O_2.Corticosteroizii produşi timp de 1 oră de către glanda suprarenală, difuzează în mediu de incubare.

Tot mediu de incubare (fără ţesut) se transvazează într-o eprubetă cu dop rodat, care conţine 2 ml diclormetan.Se astupă eprubetele, după care se agită puternic timp de 1 minut, perioadă în care are loc extragerea corticosteroizilor cu diclormetan.Se centrifughează eprubetele (circa 10 minute) pentru o mai bună separare a straturilor, se lasă la frigider (-20°C) timp de 1 oră, în vederea congelării eventualelor urme de apă din diclormetan, după care se extrage cu o seringă diclormetanul, ce conţine corticosteroizii extraşi şi se fotometrează în U.V. la 240 şi respectiv 260mμ contra martorului.Martorul este reprezentat de 2 ml soluţie de incubare fără glanda suprarenală, care a fost prelucrată în continuare identic cu celelalte probe.

Corticosteroizii prezintă un maxim de absorbţie la 240 mμ. Citirea la 260 mμ ne indică eventualele contaminări ale probei cu acizi nucleici sau alte proteine.Extincţia citită la 260 mμ, se scade din extincţia citită la 240 mμ.

Pentru curba standard se folosesc diferite concentraţii de corticosteron.

Producţia de hormoni se exprimă în μg/100 mg suprarenală/oră, sau în μg/100 g g.c./oră.

Recomandări:se vor nota valorile obţinute iar rezultatele vor fi prelucrate statistic.

Intrebări de control: Cine reglează funcţia corticosuprarenalei?Prin cîte feluri de mecanisme feed-back este reglată funcţia corticosuprarenalei?

32. TIROIDECTOMIA LA SOBOLAN.

Cercetările cu privire la funcţia glandei tiroide reclamă adesea extirparea completă a glandei, în vederea demonstrării efectului fiziologic al insuficienţei hormonilor tiroidieni. Ţesutul tiroidian poate fi distrus cu ajutorul iodului radioactiv, sau sinteza tiroxinei poate fi inhibată cu ajutorul substanţelor guşogene (metiltiouracil), dar extirparea chirurgicală a glandei, este o tehnică relativ simplă. La rozătoare şi la alte animale, tiroidectomia chirurgicală este însoţită de extirparea completă sau parţială a ţesutului paratiroidian. Insuficienţa paratiroidiană va fi ameliorată prin administrarea în dietă a sărurilor de calciu. In timpul intervenţiei chirurgicale trebuie avută grijă de a nu afecta artera carotidă sau nervul laringeal, care este localizat lateral de trahee (Fig. 25).

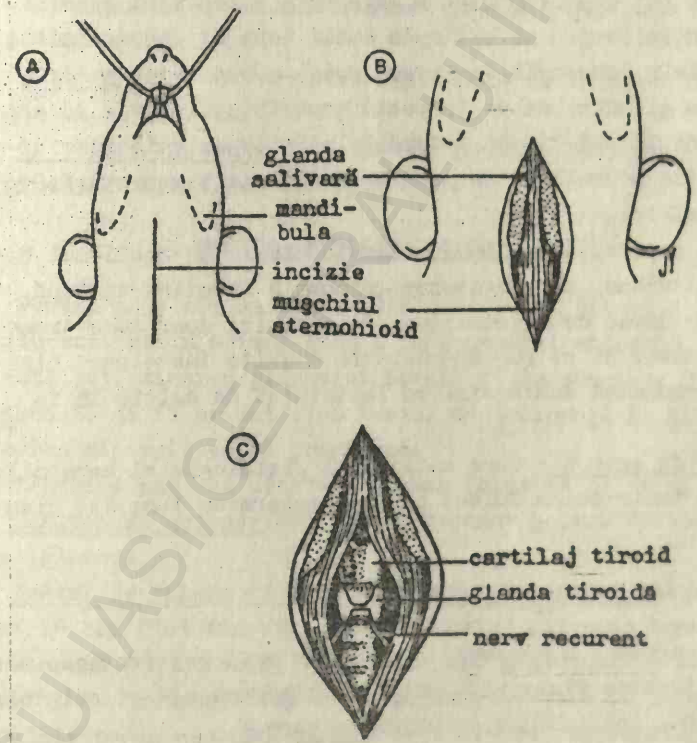


Fig.25. Tiroidectomia la şobolan.

Echipament necesar: masă chirurgicală pentru animale mici de laborator; instrumentar chirurgical; retractor; aţa chirurgicală.

Tehnica: şobolanul se anesteziază cu eter, după care se fixează pe masa de operaţie cu faţa ventrală în sus şi se continuă anestezierea.Se tunde părul din zona gîtului, după care se umectează cu alcool.Cu un bisturiu se face o incizie a tegumentului (2,5-3 cm) medio-ventrală de-a lungul gîtului şi se retractă tegumentul, fascia şi glandele submandibulare, exteriorizîndu-se muşchii sternomastoidieni şi sternohioidieni.Se separă cu atenţie muşchii de-a lungul liniei mediane, ca să se exteriorizeze traheea şi glanda tiroidă.Dacă nu dispunem de retractor, se poate folosi o sîrmă de plan îndoită, acoperită cu o bandă de cauciuc.Dacă avem în dotare, se poate folosi un microscop de disecţie, pentru o mai bună vizualizare a glandei şi reţelei vasculare şi nervoase.

Cu un foarfece fin se disecă cu atenţie un capăt lateral al glandei.Se ridică capătul secţionat şi se ţine foarfecele de iris în plan orizontal pentru a desprinde ţesutul dintre glandă şi trahee.Se continuă acţiunea sub glandă, deasupra suprafeţei traheei. Lucrînd cu atenţie,reuşim să extirpăm ambii lobi ai glandei cît şi istmul.Eventualele hemoragii,se opresc prin tamponare cu vată. După extirparea glandei, se va inspecta suprafaţa traheei, pentru a ne convinge de tiroidectomia totală.Se permite muşchilor de a reveni în poziţia normală şi se suturează incizia tegumentară.Se tamponează cu alcool.

Sobolanii suportă relativ uşor tiroidectomia.Metabolismul bazal diminuează intens, iar creşterea corporală încetineşte.După 1-1,5 luni apar semne de hipocalcemie.Pe incisivi apar zone transversale întunecoase şi se rup uşor.Pentru a evita instalarea hipocalcemiei se recomandă administrarea lactatului de calciu 1% în apa de băut.

Intrebări de control: Care este rolul fiziologic al hormonilor tiroidieni? Ce teste putem folosi pentru explorarea funcţiei glandei tiroide?

33.DIABETUL ALLOXANIC.

Alloxanul produce o necroză a celulelor beta pancreatice, ceea ce duce la instalarea diabetului.Celulele zimogene cît şi celulele alfa pancreatice, continuă să funcţioneze normal.

Material necesar:alloxan 2% în soluţie fiziologică;seringă; baie de apă;şobolan.

Tehnica: se preferă şobolani în greutate de 120-150 g , care au stat în prealabil 24 de ore în inaniţie.Se determină nivelul glicemiei bazale.Alloxanul se administrează în doza de 50 sau 100 mg/Kg.Administrarea alloxanului se face i.v. în vena cozii sau safenă.Cînd se utilizează vena cozii, se hiperemiază coada şobolanului, ţinînd-o în apă caldă.In felul acesta ne apar vizibile venele cozii.Se va utiliza un ac subţire (nr.27).Se injectează în zona venei mai apropiată de vîrful cozii, care este mai uşor de pătruns.

Pentru a mări gradul de supravieţuire a şobolanilor, se recomandă a se injecta în primele 3 zile de la alloxanizare cîte 4 U.I. de insulină/Kg/zi s.c.

Se va înregistra în primele 2 săptămîni consumul de apă al fiecărui animal.După 2 săptămîni se va determina glicemia, pentru a stabili severitatea diabetului.

Alloxanul poate fi administrat şi s.c., dar doza va fi mărită. la 150-200 mg/Kg.

Recomandări: se vor nota simptoamele ce însoţesc dezvoltarea diabetului alloxanic.

Intrebări de control: Ce metode putem folosi pentru stabilirea gradului diabetului zaharat?

34.TESTUL DE TOLERANTA LA GLUCOZA.

Pentru a determina starea sistemelor, ce intervin în homeostazia glucozei şi în primul rînd a pancreasului endocrin, nu este suficientă determinarea glicemiei bazale ci se practica unele teste funcţionale şi în primul rînd testul de toleranţă la glucoză (TTG) sau curba hiperglicemiei provocate.

Descriem mai jos cîteva procedee folosite la om şi la animale.

Echipament necesar:echipament necesar pentru determinarea glicemiei;glucoză.

Testul de toleranţă la glucoză per os la om. Subiectului, care a stat 16 ore fără mîncare, i se determină glicemia bazală, după care consumă 200 ml ceai, ce conţine 100 g glucoză.Modificările glicemiei se urmăresc timp de 3 ore la intervale de 30 minute de la administrarea ceaiului.Datele obţinute se reprezintă sub formă de curbă, trecînd pe ordonată cantitatea de glucoză în mg%, iar pe abscisă-timpul în minute.Curba obţinută ne indică: 1-nivelul iniţial al glicemiei; 2-viteza, amplitudinea şi durata creşterii

glicemiei după administrarea glucozei; 3- timpul şi caracterul revenirii la valorile iniţiale.

La indivizi normali glicemia atinge un maxim în primele 30 minute şi, de regulă, nu depăşeşte 170 mg% (după metoda Hagedorn-Jensen), după care scade revenind la valoarea iniţială în 1,5-2 ore.La diabetici hiperglicemia este mai pronunţată (peste 180mg%) iar revenirea la valoarea iniţială, se face mult mai lent.

Testul de toleranţă la glucoză i.v. la om. Glucoza se administrează i.v. în cantitate de o,3g/Kg g.c.Sîngele se recoltează înainte de administrare a glucozei şi la 15,30,45,60 minute de la injecţie.La normali valoarea maximă se obţine după 15 minute,apoi scade revenind la normal în 60 minute.La diabetici valoarea maximă se obţine tot după 15 minute, însă hiperglicemia este mai mare, după care scade treptat fără a atinge după 60 minute nivelul de plecare.

Testul de toleranţă la glucoză per os la şobolan. După o prealabilă inaniţie de 14 ore se administrează glucoză (400 mg / 100 g g.c.) cu ajutorul unui tub introdus în stomac. Concentraţia glucozei-20%.Se determină glicemia bazală şi apoi la intervale de 30 minute timp de 3 1/2 ore.

Testul de toleranţă la glucoză i.v. la şobolan. La şobolani, care au stat 14-18 ore în inaniţie, se determină glicemia bazală, după care se injectează în vena cozii 100mg glucoză/100 g g.c. Se utilizează o soluţie de glucoză în concentraţie de 100 g/100 ml. Probele ulterioare se iau la intervale de 15,30,60 şi 90 minute.

După prelucrarea statistică a rezultatelor, se trec pe ordonată mediile $\pm$ E.S. a concentraţiei glucozei(mg%) iar pe abscisă-timpul de recoltare a probei.Se interpretează numai variaţiile, care sînt asigurate d.p.d.v. statistic.

Toleranţa la glucoză este crescută în cazurile în care sistemele hipoglicemiante domină activitatea sistemelor hiperglicemiante.De exemplu în hipocorticism (boala Addison) sau în hipersecreţie de insulină.O scădere a toleranţei la glucoză se observă în cazurile în care sistemele hiperglicemiante domină activitatea celor hipoglicemiante (diabet zaharat,hipertiroidism,boli acute ale ficatului, icter, hiperpituitarism, acidoză,boli infecţioase).

Recomandări: rezultatele obţinute se vor prelucra statistic şi se vor reprezenta grafic.

Intrebări de control: Care sînt hormonii hipo- şi respectiv hiperglicemianţi?Care este mecanismul de acţiune al hormonilor? Cum explicaţi creşterea iniţială urmată de scăderea ulterioară a curbei hiperglicemiei provocate?Avînd în vedere influenţa sistemului nervos asupra secreţiei hormonale, cum explicaţi creşterea proporţiei celor suferinzi de diabet zaharat sub influenţa factorilor stresanţi?Deoarece glucoza stimulează secreţia de insulină, cum explicaţi posibilitatea instalării diabetului în urma consumării unor cantităţi mărite de glucide?

35.TESTUL DE TOLERANTA LA INSULINA.

Acest test constituie, de asemenea, o metodă de testare a stării sistemelor, ce intervin în homeostazia glucozei.După administrarea insulinei, apare o hipoglicemie , care se menţine 30-60 minute de la administrarea insulinei, după care glicemia revine treptat la normal.In cazul predominării sistemelor hiperglicemiante (hiperpituitarism în special legat de hipersecreţia de corticotropină şi somatotropină) hipoglicemia poate fi nesemnificativă.Glucagonul cît şi adrenalina, de asemenea, diminuează consumul de glucoză a ţesuturilor dependente de insulină.Avem de a face cu animale rezistente la insulină sau sensibilitatea la insulină este diminuată. Cînd scăderea glicemiei după administrarea insulinei este mai accentuată, comparativ cu animalele normale, sensibilitatea la insulină este mărită (hipocorticism,hipopituitarism etc.).

In practica medicală această probă poate fi folosită pentru testarea funcţiei hepatice.Proba se bazează pe faptul că după o injecţie de insulină, înainte de scăderea obişnuită a glicemiei, apare o creştere de scurtă durată a ei.In caz de insuficienţă hepatică, această hiperglicemie este redusă sau lipseşte complet.

Testul de toleranţă la insulină la om.

Material necesar:insulină,seringă,echipament necesar determinării glucozei.

Tehnica: Proba se efectuează dimineaţa pe nemîncate se determină glicemia bazală, după care se injectează i.v. 30 U insulină la un bolnav de 60 Kg.După 3,8 şi 12 minute de la injecţie, se determină din nou glicemia.La 15 minute de la injecţie, se administrează i.v. 25 ml glucoză 40% şi i se dă un prînz bogat în glucide

Interpretare: în caz de funcţie hepatică normală, se constată la 3 minute de la administrarea insulinei o creştere a glicemiei

de 10-20 mg%, după care glicemia scade sub nivelul bazal.In leziunile parenchimului hepatic,hiperglicemia după 3 minute lipsește.

Testul de toleranță la insulină la sobolan.Insulina solvită în soluția Krebs, având 200 mg gelatină% ;material necesar determinării glicemiei.

Tehnica: se determină glicemia bazala la șobolan, care a stat în prealabil circa 18 ore fără mîncare.Se administrează în vena cozii 0,125 U.insulină/Kg g.c. și se recoltează probele ulterioare la 30,60 și 120 minute.Rezultatele se reprezintă grafic trecînd pe ordonată mg glucoză%, iar pe abscisă-timpul în minute.

Recomandări: testul va fi efectuat pe următoarele loturi de șobolani:normali;suprarenalectomizați;tiroidectomizați.

Intrebări: Ce factori ar putea modifica sensibilitatea la insulină a țesuturilor dependente de insulină?

36.CASTRAREA SOBOLANILOR MASCULI.

Echipament necesar: masă de operație;trusă de instrumente chirurgicale; port-ac;ață chirurgicală;vată;alcool; eter; șobolan.

Tehnica:Sobolanul anesteziat cu eter se fixează pe masa de operație cu fața ventrală în sus.Se îndepărtează părul de pe scrotum și părțile interne a coapsei . Suprafața ventrală a scrotumului se tamponează cu alcool.Dacă testiculele sînt retractate în cavitatea abdominală, atunci, printr-un masaj ușor al peretelui abdominal, începînd dinspre cutia toracică spre simfiza pubiană, îi putem deplasa ușor în scrotum.

Se întinde tegumentul scrotumului, după care se secționează pe linia mediană pe o distanță de circa 1 cm în zona caudală (Fig.26A). Deplasăm secțiunea într-o parte și prindem testicului cu o pensă. Separăm testicului de țesuturile înconjurătoare cu partea tocită a unui bisturiu.Dacă presăm cu un deget partea superioară a scrotumului, atunci testicului, înconjurat de tunici, iese prin secțiune (Fig.26B).Cu un foarfece ascuțit se face o secțiune mică a tunicei vaginalis.Apăsînd pe tegumentul scrotumului se scoate prin secțiune testicului, împreună cu epididimul și o porțiune din ductul spermatic înconjurat de țesutul adipos (Fig.26 C).Se aplică o legătură sub porțiunea proximală a ductului spermatic și a tunicei vaginalis, după care se strînge (Fig.26 D).Se secționează cordonul spermatic distal față de ligatură și se extirpă testicului

împreună cu epididimul şi porţiunea distală a ductului spermatic. Porţiunea proximală a ductului spermatic se introduce în scrotum.

Se deplasează secţiunea tegumentului în partea opusă a scrotumului şi se îndepărtează celălalt testicul, după care secţiunea tegumentului se închide prin 2-3 suturi şi se tamponează cu alcool

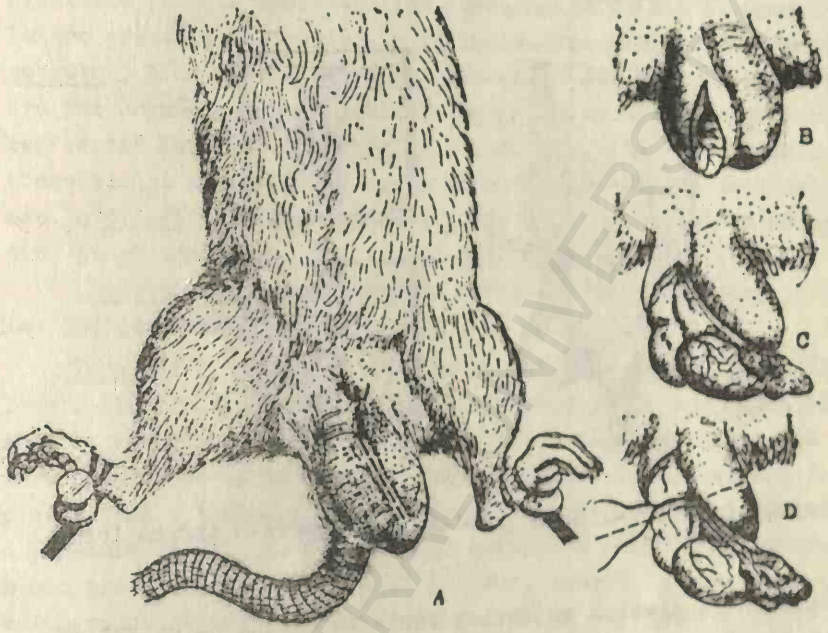


Fig.26. Castrarea şobolanilor masculi.Explicaţia în text.

37.OVARIECTOMIA LA SOBOLAN.

Echipament necesar: masă de operaţie pentru animale mici;eter; instrumentar chirurgical; aţă chirurgicală; alcool; vată; şobolan femelă.

Tehnica: Ovariectomia se efectuează sub o uşoară anestezie cu eter.Se fixează şobolanul pe masa de operaţie cu faţa ventrală în jos, se tunde părul în zona indicată pe Fig 27A după care se unge cu alcool.Se face o secţiune a tegumentului pe linia mediană, începînd cu aproximativ 1 cm posterior ultimei perechi de coaste.Deplasînd secţiunea spre dreapta, se observă prin transparenţă, la o distanţă de circa 1 cm lateral faţă de muşchiul lung spinal,ovarul sau ţesutul adipos, care îl înconjoară.La acest nivel cu un foarfece de iris se practică o secţiune mică prin stratul muscular prin care pătrundem în cavitatea abdominală.Ovarul este localizat

la polul inferior al rinichiului şi este înconjurat de ţesut adipos.Tesutul adipos se prinde cu o pensă şi se extrage prin secţiune împreună cu ovarul, oviductul şi partea superioară a uterului (Fig 27B).Se aplică o ligatură între ovar şi uter, după care se secţionează ovarul împreună cu oviductul, iar uterul se plasează în cavitatea abdominală.

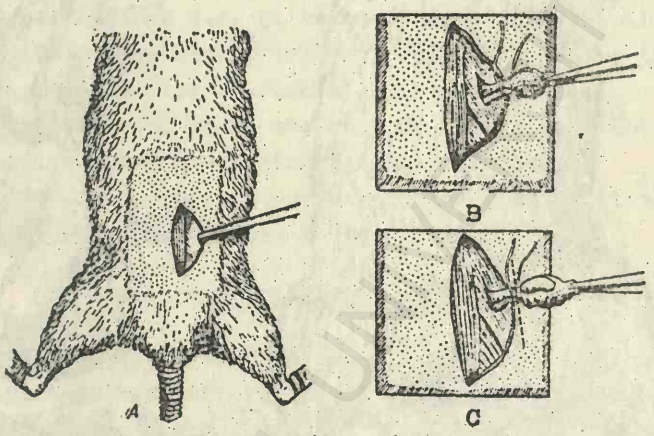


Fig.27.Ovariectomia la şobolan.Zona punctată indică locul secţiunii.

Secţiunea la nivelul muşchilor poate fi cusută cu catgut.Se îndreaptă secţiunea tegumentului spre stînga şi folosind acelaşi procedeu ca mai sus, se îndepărtează şi ovarul stîng.In final se coase tegumentul cu aţă chirurgicală şi se umectează cu alcool.

Dacă şobolanul sau şoarecele utilizat este tînăr, nu este necesară aplicarea legăturii sub ovar, deoarece hemoragia este neglijabilă.In acest caz se recomandă numai de a comprima cu o pensă hemostatică trompa lui Fallop şi vasele din jurul zonei unde se va secţiona.De asemenea, se poate omite cusutul stratului muscular.

După ovariectomie bilaterală, modificările ciclice de la nivelul uterului şi a vaginului, se opresc.La unii şobolani pot reapare modificări ciclice ca urmare a regenerării aparatului folicular din fragmente de ţesut ovarian neextirpat sau formarea de foliculi noi din capsula ovariană sau ţesutul slab diferenţiat al epiteliului peritoneal.De aceea se recomandă ca după castrare să se urmărească frotiurile vaginale zilnic timp de 3 săptămîni(alţi autori recomandă numai 5 zile) şi să se ia în experienţă numai

38. STABILIREA CICLULUI ESTRAL LA SOBOLAN.

Ciclul estral la şobolanul de laborator durează 4-5 zile şi se repetă tot timpul anului (poliestru) pînă nu are loc fecundarea ovulului. Ciclul poate fi divizat în patru stadii, care pot fi stabilite pe baza modificărilor caracteristice ale elementelor celulare prezente în frotiurile vaginale. Ovulaţia are loc în timpul estrului, cînd femela intră în călduri şi acceptă masculul. Dacă nu are loc copulaţia se formează în metestru un mic corp galben, care regresează în timpul diestrului. Uterul, care în faza estrală era congestionat şi infiltrat cu un lichid clar, devine subţire şi anemic. În proestru se formează noi foliculi, iar uterul se măreşte din nou, pregătindu-se pentru nidarea din estru

Material necesar: pipetă de ochi; microscop; albastru de metilen 5%; şobolani femeli maturi.

Tehnica: Frotiurile vaginale se pot executa în moduri diferite: 1-se aplică puţină vată în vîrful unei scobitori sau a unui băţ de chibrit ascuţit la vîrf, se umectează în soluţie fiziologică şi se introduce tamponul în vaginul şobolanului. Nu este necesară introducerea prea adîncă a tamponului în vagin sau rotirea lui. Se transferă pe o picătură de soluţie fiziologică pusă pe o lamă de microscop. 2-alt procedeu, care pare a fi mai bun, constă în pipetarea unui volum redus de soluţie fiziologică sau apă în vagin (Fig.28)

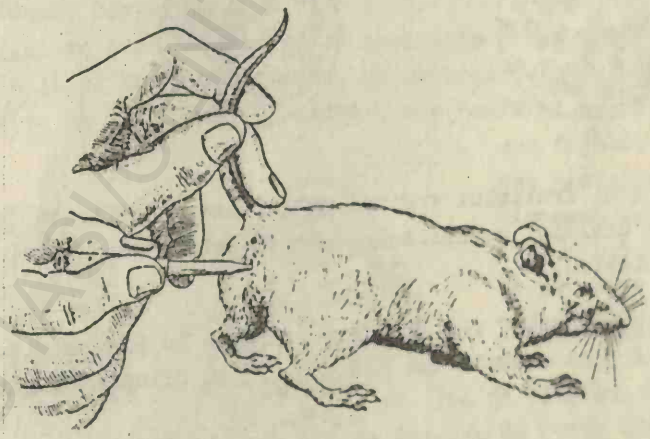


Fig.28. Executarea frotiului vaginal la şobolan.

În acest scop se aspiră în pipetă o cantitate de soluţie fiziologică, se introduce vîrful pipetei în vagin, se elimină conţinutul şi se aspiră din nou. Se repetă de 2-3 ori aspirarea şi eliminarea

lichidului în vagin, după care conţinutul aspirat se elimină pe o lamă de microscop.Daca se lucrează cu atenţie, şobolanii stau liniştiţi în timpul executării frotiului vaginal.

Lichidul de pe lama microscopică, poate fi analizat ca atare, la un microscop cu amplificare şi iluminare reduse, sau se usucă. După uscare se colorează cu albastru de metilen, se spală cu apă la un curent slab, se usucă şi se examinează la microscop cu amplificare mare.

Incercaţi să identificaţi prezenţa sau absenţa a 3 tipuri de celule şi mucus:

1-leucocite (polimorfonucleare)

2-celule epiteliale nucleate

3-celule epiteliale mari, descuamate, denumite celule cornificate (cheratinizate).Nucleul este prezent sau absent.

4-mucus (Fig.29).

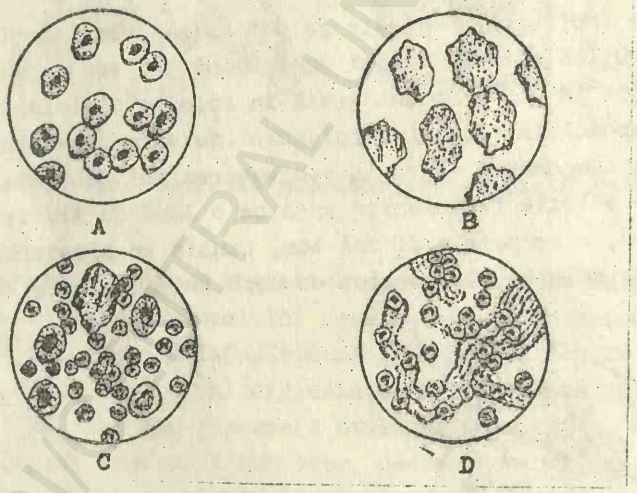


Fig.29.Tabloul frotiului vaginal la şobolan în diferite faze ale ciclului sexual.A-proestru;B-estru;C-metestru; d-diestru.

1-In proestru frotiul vaginal apare aproape în exclusivitate din celule epiteliale rotunde sau poliedrice, cu citoplasma granulară şi nucleu mare (Fig 29 A).

2-In faza de estru se observă celule cheratinizate mari, fără

nucleu şi formă neregulată.Lipsesc leucocite şi celule epiteliale cu nucleu.La sfîrşitul fazei de estru, celulele se aglomerează.

3-Faza de metestru prezintă puţine celule cheratinizate şi multe leucocite.Pentru o scurtă perioadă de timp pot apare şi celule epiteliale nucleate (29C)

4-Faza de diestru conţine mucus în cantitate mare, multe leucocite şi un număr redus de celule epiteliale cu nuclei(29 D), care sînt mai mari decît leucocitele.

Recomandări:După ce aţi observat modificările care apar în diferite faze ale ciclului estral, se vor selecta şi sacrifica 2 femele:una în faza de estru şi alta în anestru(metestru sau diestru).Se va înregistra diferenţa, care apare în aspectul uterului, dacă vaginul este deschis sau nu.Se va separa uterul de vagin prin secţionare la nivelul gîtului.Se va îndepărta ţesutul înconjurător şi se vor tăia trompele uterine.După scoaterea lichidului intrauterin,prin presarea uterului pe o hîrtie de filtru,se va cîntări uterul.

Întrebări: Cine controlează modificările ciclice, care au loc la nivelul uterului şi a vaginului?

39.HIPOFIZECTOMIA LA BROASCA.

Material necesar: bisturiu; foarfece; pensă; foarfece iris; port-ac,aţă chirurgicală; plangetă cu plută; tampoane de vată; soluţie Ringer; broască.

Tehnica: se pune broasca (fără anestezie prealabilă) pe pluta de disecţie şi se înfăşoară strîns, cu excepţia capului.Se deschide gura mare, se prinde vîrful limbii cu o pensă şi se prinde sub faşă.Cu foarfece sau bisturiu se secţionează longitudinal (circa 1,5 cm) mucoasa palatină pe linia mediană, descoperind suprafaţa inferioară a osului parasfenoid de formă cruciformă (Fig.30).Cu un foarfece ascuţit se sec-

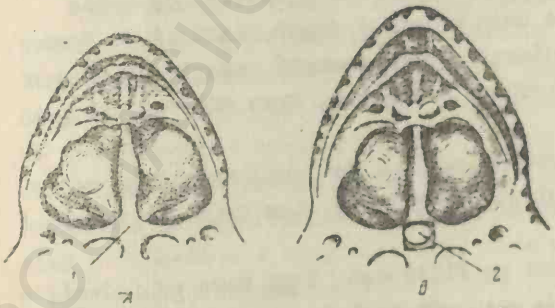


Fig.30.Hipofizectomia la broască.1-osul parasfenoid;2-adenohipofiza.

ţionează excrescenţa anterioară şi cele 2 excrescenţe laterale ale osului parasfenoid şi se răsfrînge zona centrală a osului cu o pensă.In această zonă este dispusă hipofiza.Adenohipofiza poate fi uşor desprinsă cu ajutorul unei pense fine sau prin aspirare cu o pipetă.Porţiunea centrală a osului parasfenoid, se lasă în poziţia iniţială, care se acoperă cu mucoasa bucală, ce se prinde cu 1-2 suturi.

Pielea broaştei hipofizectomizate se decolorează intens după cîteva ore, datorită dispariţiei hormonului melanotropina.

Întrebări: Ce hormoni se sintetizează în adenohipofiză?Cine controlează activitatea ei?

40.DIAGNOSTICUL PRECOCE DE SARCINA.

Proba Galli-Mainini.

Proba Galli-Mainini, care datează din 1947, este folosită în diagnosticarea sarcinei la femei.Acest test poate fi folosit şi ca o metodă biologică de dozare a gonadotropinelor hipofizare.

Cloaca broaştelor masculi nu conţine spermatozoizi, cu excepţia perioadei lor de reproducere.Eliberarea spermatozoizilor maturi, cu pătrunderea lor în cloacă, are loc sub influenţa hormonilor gonadotropi.Procesul are loc în decursul a cîtorva zeci de minute de la injectarea urinei de la o femeie gravidă sau a gonadotropinei corionice.Cele mai indicate broaşte pentru această reacţie sînt masculii de Rana ridibunda sau Rana esculenta.Masculii acestor specii pot fi diferenţiaţi de femele, prin prezenţa rezonatorilor şi a unei proeminenţe de la baza primului deget al membrului anterior.Pot fi folosiţi şi masculi de Bufo bufo sau Bufo viridis, dar deosebirea faţă de femelă este mai dificilă, deoarece ei nu prezintă proeminenţa la baza primului deget.Masculii de Rana temporaria sînt mai puţin indicaţi pentru această reacţie, deoarece sensibilitatea lor la gonadotropină corionică, este mult mai redusă.

Echipament necesar: microscop;seringă de 5 ml; pipetă de ochi; lame şi lamele de microscop;hîrtie de filtru; eter;urină de femeie gravidă;broaşte masculi.

Tehnica: urina de analizat se filtrează, după care se injectează în sacul limfatic dorsal un volum de 4 ml.Se recomandă introducerea acului de seringă nu prin înţeparea tegumentului deasupra sacului limfatic, ci prin introducerea acului prin muşchii coapsei,

pentru a evita refluarea urinei.Fiecare reacţie se montează concomitent pe cel puţin 2 broaşte.

După 30 minute, 1,2 şi 3 ore (uneori pînă la maximum 7 ore), se introduce vîrful pipetei de ochi în cloaca broaştei pe o adîncime de cîţiva mm (Fig.31), se aspiră un volum redus de lichid cloacal, pe care îl aplicăm pe o lama de microscop.Se analizează la microscop folosind amplificare mare şi iluminare mai redusă.

Spermatozoizii ne apar în formă caracteristică (Fig 32), care pot fi uşor deosebiţi de alte elemente morfologice sau flagelate, care pot fi prezente în cloacă.

Fig.31.Colectarea conţinutului cloacal la broască.

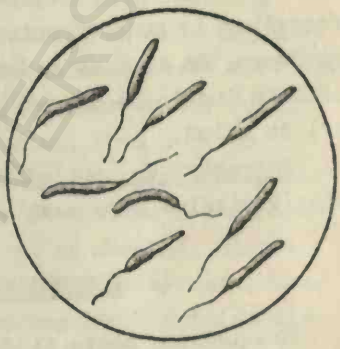


Fig.32.Aspectul spermatozoizilor de broască.

Daca spermatozoizii sînt prezenţi, rezultatul reacţiei este pozitiv.In cazul în care spermatozoizii nu apar nici după 5-7 ore, rezultatul reacţiei este negativ (absenţa sarcinei).

Cu reacţia Galli-Mainini în diferite perioade ale anului, se obţin 85-99% reacţii corecte.

Eliminarea urinară a gonadotropinelor corionice, începe în primele zile după fertilizarea ovulului, în aşa fel, încît în timpul care coincide cu menstruaţia, care ar fi trebuit să apară, dacă n-ar fi survenit sarcina, urina conţine cantităţi detectabile de gonadotropină corionică.Mai recomandat este ca testul să se facă după 8-20 zile de la întîrzierea ciclului menstrual.Eliminarea urinară a gonadotropinelor creşte intens, ajung la maximum către ziua a 50-a-60-a a sarcinii, după care scade brusc către ziua a 80-a, cînd eliminarea ei continuă pînă la parturiţie în cantităţi mici, dar suficiente pentru a da reacţia pozitivă.

Eliminarea gonadotropinei corionice persistă în timpul lehuziei, dacă există retenţie de resturi placentare.

Factori de eroare şi corectarea lor.

1-Erori fals-pozitive: a-broscoii elimină în mod spontan spermatozoizii în perioada de împerechere din lunile aprilie-mai. De aceea vor fi controlaţi cu rigurozitate înainte de a fi utilizaţi; b-femeile,care iau preparate de clorpromazină, dau reacţii fals-pozitive în circa 10% din cazuri.

2-Erori fals-negative: a-broscoii folosiţi de mai multe ori, devin mai puţin sensibili şi nu vor fi utilizaţi pentru această reacţie mai mult de 3 ori; b-există o sensibilitate sezonieră a broscoilor la gonadotropina corionică.Sensibilitatea maximă este primăvara, în timp ce toamna sensibilitatea diminuează mult. De aceea în lunile de toamnă şi iarnă se vor injecta cantităţi mai mari de urină.

Intrebări de control:Ce hormoni controlează activitatea organelor genitale? Care este rolul endocrin al placentei?

41. DOZAREA VASOPRESINEI.

Vasopresina poate fi dozată prin metode biologice, măsurînd amplitudinea modificării unor indici (presiunea arterială, sau antidiureza), pe care vasopresina le afectează în condiţii fiziologice. Descriem mai jos una din metodele folosite,care se bazează pe măsurarea presiunii arteriale la şobolan.

Principiu:Se injectează succesiv 2 doze diferite de vasopresină standard şi 2 doze de soluţie de testat.In toate cazurile volumul de lichid injectat se păstrează constant.După fiecare injectare se măsoară creşterea presiunii arteriale.Cunoscînd sensibilitatea animalului la vasopresină, stabilită pe baza soluţiei standard, se poate afla concentraţia de vasopresină din soluţia de analizat.

Extragerea vasopresinei din neurohipofiză.

Se sacrifică şobolanii prin decapitare, se extrage neurohipofiza şi se cîntăreşte la balanţa de torsiune.Se mojarează în 0,5 ml acid acetic 0,25%, după care se spală mojarul cu 0,5 ml de acid acetic 0,25%.Mojaratul colectat în eprubete, se fierbe 4-5 minute, timp în care are loc eliberarea hormonului din granule.

Determinarea hormonului poate fi făcută imediat, sau se poate conserva extrasul la frigider.

Dozarea vasopresinei:

Echipament necesar: instalaţie pentru măsurarea presiunii arteriale la animale mici de laborator;tub de polietilen pentru canularea venei femurale şi a arterei carotide; pense pentru artere; soluţie uretan 25% în ser fiziologic;dibenamina;vasopresină; NaCl 0,9%;heparină;kimograf;seringă de insulină;seringă de 5 ml; foarfece mic;pense;riglă gradată;şobolan.

Tehnica: sobolanul mascul în greutate de 200-300 g, se anesteziază cu uretan.Se fixează pe masa de operaţie cu faţa ventrală în sus, se tunde tegumentul în regiunea inghinală, se taie tegumentul şi cu un foarfece se depărtează ţesuturile adiacente.Ne apare vena femurală.Se curăţă bine vena, după care se introduce un fir dublu de aţa pe sub ea.Se leagă partea distala a venei, după care se face o mica incizie a venei, în care se introduce o canulă de polietilen.Canula se introduce adînc pînă ajunge în vena cavă inferioară.Capătul opus al canulei este fixat de un ac de seringă, ataşat la o seringă plină cu soluţie de heparină.Canula care a fost introdusă în venă, a fost umplută în prealabil cu heparină.Legăm canula de vena prin cel de al doilea fir de aţa.

Fără a hepariniza animalul, se trece la descoperirea carotidei. Se curăţă carotida la exterior, după care se introduce un fir dublu de aţă pe sub ea.Legăm capatul distal al carotidei, iar capătul proximal (apropiat de inima) se pensează cu o clemă hemostatică mică.Se heparinizează şobolanul prin injectarea în vena femurală a 500 U heparină.Se face o mică incizie în porţiunea de carotidă, cuprinsă între pensa hemostatică şi capătul distal legat, prin care introducem canula de polietilen, pe care am umplut-o cu heparină.Se leagă canula de carotidă prin cel de al doilea fir de aţă, după care se racordează canula la dispozitivul de înregistrat presiunea arterială (vezi Fig.40 Vol.I).

Toate injecţiile se fac prin canula introdusă în vena femurală.Modificările presiunii arteriale se înregistrează pe cilindrul kimografului, care se roteşte cu viteză mică.

Se injectează dibenamina (0,1 mg/100 g.g.c.), substanţă simpaticolitică.Se observă o scădere a presiunii arteriale.

In metoda Dekanski, volumul final care se injectează (standardul sau soluţia de analizat) este de 0,3 ml.

Extractul neurohipofizar de vasopresină se diluează de 10-20 ori cu NaCl 0,9%.

Se va folosi un raport al dozelor egal cu 2 (uneori poate fi folosită şi o doză triplă) în felul următor: injectăm 2mU vasopresină şi înregistrăm variaţia de presiune.Dacă modificarea presiunii, la doza de 2 mU, era mare,vom folosi cea de a doua doză de 1 mU. In cazul în care creşterea presiunii la doza de 2 mU era redusă, cea de a doua doză vom folosi egală cu 4 mU.

Ordinea injectării: 1-doza mică de standard (St 1);2-doza mică de soluţie de testat (U 1);doza mare de standard (StH) şi doza mare de necunoscut (UH).Injectarea dozei următoare se face după revenirea presiunii la normal sau după stabilizarea la un anume nivel.După cele 4 injectări, făcute anterior, se injectează 0,3 ml NaCl 0,9% , după care continuăm dozarea vasopresinei din alt lob neurohipofizar.Pe un animal de testat se pot efectua pînă la 40 dozări.Se obţine un grafic, ca în Fig 33.

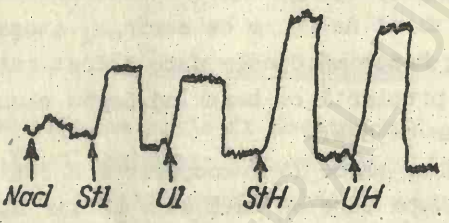


Fig.33.Efectul vasopresor al vasopresinei standard sau din extractul neurohipofizar.

Cu ajutorul unei rigle gradate se măsoară înălţimea deflexiunilor în mm şi se calculează cantitatea de vasopresină din proba necunoscută pe baza următoarei formule:

$$\frac{(StH + St1) - (UH + U1)}{(StH + UH) - (St1 + U1)} \times \log \text{raportului dozei} = M$$

Antilogaritm de M = R

R X mU folosiţi la StH = mU care se află în volumul folosit la UH. Se înmulţeşte cu diluţia, iar final se exprimă în mU vasopresină/ 100 g.g.c. sau mU/mg neurohipofiză.

Intrebări: Unde se sintetizează vasopresina? Neurohipofiza este o glandă endocrină în adevăratul înţeles al cuvîntului?

ANEXE

DETERMINAREA GLUCOZEI PRIN METODA ASATOOR A., KING E.

Principiul metodei: Glucoza din filtratul aproteic se oxidează cu reactivul cuprotartric, cu care ocazie cuprul din forma bivalentă trece în forma monovalentă, care va reduce molibdenul din arsenomolibdatul de amoniu, formînd albastru de molibden, ce se determină colorimetric.

Reactivi: 1-Reactiv Harding B modificat: se dizolvă 50 g $NaHCO_3$ în aproximativ 700 ml apă bidistilată. Apoi se adaugă 40 g carbonat de sodiu anhidru, agitînd pînă la solvire. Se adaugă 36,8 g oxalat de potasiu, solvit în 120 ml apă bidistilată încălzită. Se adaugă 24 g tartrat de sodiu şi potasiu, care a fost solvit în prealabil în 100 ml apă bidistilată. Amestecul din balonul cotat se completează cu apă bidistilată la 2000 ml. 2-acid arsenomolibdenic: 26,65 g molibdat de amoniu. $4H_2O$ se dizolvă în 450 ml apă. După solvire se adaugă 21 ml acid sulfuric concentrat. Se amestecă şi se adaugă 3 grame arsenat de sodiu. $7H_2O$, care a fost solvit în prealabil în 250 ml apă. Amestecul se pune pentru 2 zile la 37°C, după care se păstrează în sticlă brună. Inainte de folosire o parte din reactiv se diluează cu 2 părţi apă bidistilată. 3-soluţie izotonică de sulfat de sodiu şi sulfat de cupru: 320 ml $Na_2SO_4.10\ H_2O$ 3% plus 30 ml $CuSO_4.5H_2O$ 7%. 4-wolframat de sodiu: se dizolvă 6 g de wolframat de sodiu cu 2 molecule de apă, în 50 ml apă. Reactivul se păstrează în sticlă parafinată. 5-soluţie stoc de glucoză: se deshidratează în prealabil glucoza. Se solvă 100 mg glucoză în 100 ml acid benzoic 3%.

Tehnica: 0,05 ml sînge se pipetează în 3,9 ml soluţie izotonică. Se adaugă 0,05 ml wolframat de sodiu şi se amestecă. După precipitarea proteinelor se filtrează soluţia sau se centrifughează eprubetele.

Se iau 2 ml supernatant (filtrat) şi se introduc într-o eprubetă mai largă, în care în prealabil s-au pipetat 2 ml soluţie Harding B.

Proba martor: la 2 ml soluţie izotonică tratată cu wolframat şi

filtrată în prealabil,se adaugă 2 ml soluţie Harding B.

Probele standard se fac cu soluţie de glucoză de diferite concentraţii, care a fost prelucrată ca şi proba de testat (sîngele).

Toate eprubetele se închid cu dopuri de vată şi se introduc în baie pentru fierbere timp de 10 minute după care se răcesc la apa de robinet.

Se adaugă în fiecare probă 6 ml reactiv arsenomolibdenic diluat.Se agită bine eprubetele.Dezvoltarea completă a culorii are loc în 10-20 minute, timp în care încetează şi degajarea CO_2. In fiecare eprubetă se adaugă cîte 5 ml apă bidistilată.

Citirile se fac la 700 mμ contra martorului.Extincţiile se transformă în mg glucoză/100 ml soluţie, pe baza curbei etalon, făcută cu soluţie standard de glucoză.

CONTINUTUL PIINII IN SUBSTANTE NUTRITIVE,VITAMINE SI CALORII

	Protide g	Lipide g	Glucide g	Vit B_1 mg	Vit E mg	Kcal/ 100 g
Pîine de grîu, neagră	5,27-9,7	0,51-1,4	38-45	0,15-0,3	8-10,2	182,2
Pîine de grîu albă	7,35-8,2	0,39-1,2	47,13	0,05	2,2-6,8	227,0

Conţinutul în substanţe nutritive, vitamine şi calorii a laptelui şi derivatelor de lapte/100 g

	Proti- de g%	Lipi- de g%	Gluci- de g%	Vit.A u.i	Vit.D u.i	Vit E mg	Vit B_2 mg	Vit C mg	Kcal.
Lapte de vacă	3,27	3,81	3,93	50-300	2-5		0,06-0,03	0,5-5,0	65,0
Smîntînă	4,79	17,88		500	50-100	0,2	0,2	4	185
Unt	1,0	81,8		1200	150	2-3		0,9	764
Brînză de vacă	13,82	0,59	2,15	100			0,08	1,1	71
Iaurt	2,95	2,74	3,03						50

ROMANIAN CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CONTINUTUL IN SUBSTANTE NUTRITIVE, VITAMINE SI CALORII AL CARNII SI DERIVATELOR DE CARNE /100 g

	Proti-de g%	Lipi-de g	Gluci-de g	Vit.A U.I.	Vit.D U.I.	Vit E. mg	Vit.B_1 mg	B_2 mg	B mg	C mg	Kcal.
Carne de vită	19,9	7,8	0,4	25-70		0,3	0,1-0,3	0,2-0,4	0,4-0,8	0,2-1,8	156
Carne de porc	15,1	35	0,3	35	140	0,9	0,7-1,4	0,25-0,5		1,5-3	389
Carne de oaie	19,9	6,2	0,4	20-100			0,1-0,2	0,16-0,27		2,5	143
Sunca	25,0	25,0	0								335
Salam de porc	19,4	42,8	0								478
Carne de găină picior	21,3	2,9	0,3								116
Carne de rată	19,7	6,4	0,4								142
Ficat (vită)	19,9	3,7	3,3	6000-140.000	180	0,7-0,2	0,38	1,7-4,3	0,6-2,5	24-35	130
Rinichi (vită)	18,4	4,5	0,4	500		0,5	0,31	1-2		11	119
Creier	9,0	8,6	0	117		0,016		0,5-0,1		16	117

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

TABELUL Nr.1

Factorii de corecţie pentru reducerea volumului de gaz la 0°C si 760 mmHg

Temp. °C	Presiunea barometrică în mmHg 731	732	733	734	735	736	737	738	739	740
15	0,912	0,913	0,914	0,915	0,917	0,918	0,919	0,920	0,921	0,923
16	909	910	911	912	913	915	916	917	918	920
17	905	907	908	909	910	912	913	914	915	917
18	902	903	905	906	907	908	910	911	912	913
19	899	900	902	903	904	905	907	908	909	910
20	896	898	899	900	901	903	904	905	906	907
21	893	894	895	897	898	899	900	902	903	904
22	890	891	892	894	895	896	897	899	900	901
23	887	888	889	891	892	893	894	895	897	898
24	884	885	886	888	889	890	891	892	894	895
25	881	882	883	885	886	887	888	889	891	892
26	878	879	880	882	883	884	885	886	883	889
27	875	876	878	879	880	881	882	884	885	886

	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750
15	0,924	0,925	0,927	0,928	0,929	0,930	0,923	0,933	0,934	0,935
16	921	922	923	924	926	927	928	930	931	932
17	918	919	920	921	923	924	925	926	928	929
18	915	916	917	918	920	921	922	923	924	926
19	911	913	914	915	916	918	919	920	921	923
20	908	910	911	912	913	914	916	917	918	919
21	905	906	908	909	910	911	913	914	915	916
22	902	903	905	906	907	908	909	911	912	913
23	899	900	902	903	904	905	906	908	909	910
24	896	897	899	900	901	902	903	905	906	907
25	893	894	895	897	898	899	900	902	903	904
26	890	891	892	894	895	896	897	898	900	901
27	887	888	890	891	892	893	894	895	897	898

	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760
15	0,937	0,938	0,939	0,940	0,942	0,943	0,944	0,945	0,947	0,948
16	933	935	936	937	938	940	941	942	943	945
17	930	931	933	934	935	936	938	939	940	941
18	927	928	929	931	932	933	934	936	937	938
19	924	925	926	927	929	930	931	932	934	935
20	921	922	923	924	925	927	928	929	930	932
21	917	919	920	921	922	924	925	926	927	928
22	914	916	917	918	919	920	922	923	924	925
23	911	912	914	915	916	917	919	920	921	922
24	908	909	911	912	913	914	915	917	918	919
25	905	906	908	909	910	911	912	914	915	916
26	902	903	904	906	907	908	909	911	912	913
27	899	900	901	903	904	905	906	907	909	910

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Temp.	Presiunea barometrică în mmHg									
°C	761	762	763	764	765	766	767	768	768	770
15	0,949	o,95o	o,952	o,953	o,954	o,955	o,957	o,958	o,959	o,96o
16	946	947	948	95o	951	952	953	954	956	957
17	943	944	945	946	947	949	95o	951	952	954
18	939	941	942	943	944	945	947	948	949	95o
19	936	937	939	94o	941	942	943	945	946	947
2o	933	934	935	937	938	939	94o	941	943	944
21	93o	931	932	933	935	936	937	938	939	941
22	927	928	929	93o	931	933	934	935	936	937
23	923	925	926	927	928	929	931	932	933	934
24	92o	921	923	924	925	926	928	929	930	931
25	917	918	92o	921	922	923	924	926	927	928
26	914	915	917	918	919	92o	921	923	924	925
27	911	912	913	915	916	917	918	919	921	922

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

TABELUL Nr.2

Transformarea consumului de oxigen pe minut în calorii/24 ore pe baza coeficientului caloric al oxigenzlui de 4.825 calorii / litru corespunzător unui coeficient respirator egal cu 0,82

O_2 pe min.	Cal./ 24 h	O_2 pe min.	Cal./ 24 h	O_2 pe min.	Cal./ 24 h	O_2 pe min.	Cal./ 24 h	O_2 pe min.	Cal./ 24 h
150	1042	181	1258	212	1473	243	1688	274	1904
151	1049	182	1265	213	1480	244	1695	275	1911
152	1056	183	1271	214	1487	245	1702	276	1918
153	1063	184	1278	215	1494	246	1709	277	1925
154	1070	185	1285	216	1501	247	1716	278	1932
155	1077	186	1292	217	1508	248	1723	279	1938
156	1084	187	1299	218	1515	249	1730	280	1945
157	1091	188	1306	219	1522	250	1737	281	1952
158	1098	189	1313	220	1529	251	1744	282	1959
159	1105	190	1320	221	1536	252	1751	283	1966
160	1112	191	1327	222	1542	253	1758	284	1973
161	1119	192	1334	223	1549	254	1765	285	1980
162	1126	193	1341	224	1556	255	1772	286	1987
163	1133	194	1348	225	1563	256	1779	287	1994
164	1139	195	1355	226	1570.	257	1786	288	2001
165	1146	196	1362	227	1577	258	1793	289	2008
166	1153	197	1369	228	1584	259	1800	290	2015
167	1160	198	1376	229	1591	260	1806	291	2022
168	1167	199	1383	230	1598	261	1813	292	2029
169	1174	200	1390	231	1605	262	1820	293	2036
170	1181	201	1397	232	1612	263	1827	294	2043
171	1188	202	1403	233	1619	264	1834	295	2050
172	1195	203	1410	234	1626	265	1841	296	2057
173	1202	204	1417	235	1633	266	1848	297	2064
174	1209	205	1424	236	1640	267	1855	298	2071
175	1216	206	1431	237	1647	268	1862	299	2077
176	1223	207	1438	238	1654	269	1869	300	2081
177	1230	208	1445	239	1661	270	1876	301	
178	1237	209	1452	240	1668	271	1883		
179	1244	210	1459	241	1674	272	1890		
180	1251	211	1466	242	1681	273	1897		

TABELUL Nr.3

Valorile standard ale metabolismului bazal pe 24 ore după Harris şi Benedict.

Sexul masculin : valori bazate pe greutate.

Kg	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
50	754	755	757	758	760	761	762	764	765	766
51	768	769	771	772	773	775	776	777	779	780
52	782	783	784	786	787	788	790	791	793	794
53	795	797	798	799	801	802	804	805	806	808
54	809	810	812	813	815	816	817	819	820	821
55	823	825	826	827	828	830	831	832	834	835
56	837	838	839	841	842	843	845	846	848	849
57	850	852	853	854	856	857	859	860	861	863
58	864	865	867	868	870	871	872	874	875	876
59	878	879	881	882	883	885	886	887	889	890
60	892	893	894	896	897	898	900	901	903	904
61	905	907	908	909	911	912	914	915	916	918
62	919	920	922	923	925	926	927	929	930	931
63	933	934	936	937	938	940	941	942	944	945
64	947	948	949	951	952	953	955	956	958	959
65	960	962	963	964	966	967	969	970	971	973
66	974	975	977	978	980	981	982	984	985	986
67	988	989	991	992	993	995	996	997	999	1000
68	1002	1003	1004	1006	1007	1008	1010	1011	1013	1014
69	1015	1017	1018	1019	1021	1022	1024	1025	1026	1028
70	1029	1030	1032	1033	1035	1036	1037	1039	1040	1041
71	1043	1044	1046	1047	1048	1050	1051	1052	1054	1055
72	1057	1058	1059	1061	1062	1063	1065	1066	1068	1069
73	1070	1072	1073	1074	1076	1077	1079	1080	1081	1083
74	1084	1085	1087	1088	1090	1091	1092	1094	1095	1096
75	1098	1099	1101	1102	1103	1105	1106	1107	1109	1110
76	1112	1113	1114	1116	1117	1118	1120	1121	1123	1124
77	1125	1127	1128	1129	1131	1132	1134	1135	1136	1138
78	1139	1140	1141	1143	1145	1146	1147	1149	1150	1151
79	1153	1154	1156	1157	1158	1160	1161	1162	1164	1165
80	1167	1168	1169	1171	1172	1173	1175	1176	1178	1179
81	1180	1182	1183	1184	1186	1187	1189	1190	1191	1193
82	1194	1195	1196	1198	1200	1201	1202	1204	1206	1206
83	1208	1209	1211	1212	1213	1215	1216	1217	1219	1220
84	1222	1223	1224	1226	1227	1228	1230	1231	1233	1234
85	1235	1237	1238	1239	1241	1242	1244	1245	1246	1248
86	1249	1250	1252	1253	1255	1256	1257	1259	1260	1261
87	1263	1264	1266	1267	1268	1270	1271	1272	1274	1275
88	1277	1278	1279	1281	1282	1283	1285	1286	1288	1289
89	1290	1292	1293	1294	1296	1297	1299	1300	1301	1303
90	1304	1305	1307	1308	1310	1311	1312	1314	1315	1316
91	1318	1319	1321	1322	1323	1325	1326	1327	1329	1330
92	1332	1333	1334	1336	1337	1338	1340	1341	1343	1344
93	1345	1347	1348	1349	1351	1352	1354	1355	1356	1358
94	1359	1360	1362	1363	1365	1366	1367	1369	1370	1371
95	1373	1374	1376	1377	1378	1380	1381	1383	1384	1385

BIBLIOTECA DE MEDICINĂ
BUCHAREST MEDICAL LIBRARY

TABELUL Nr.4

Sexul bărbătesc : valori bazate pe vîrstă şi înălţime

cm.	Ani 21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
151	614	607	600	593	587	580	573	567	560	553	546	539
152	619	612	605	598	592	585	578	571	565	558	551	544
153	634	617	610	603	597	590	583	576	570	563	556	549
154	629	622	615	608	602	595	588	581	575	568	561	554
155	634	627	620	613	607	600	593	586	580	573	566	559
156	639	632	625	618	612	605	598	591	585	578	571	564
157	644	637	630	623	617	610	603	596	590	583	576	569
158	649	642	635	628	622	615	608	601	595	588	581	574
159	654	647	640	633	627	620	613	606	600	593	586	579
160	659	652	645	638	632	625	618	611	605	598	591	584
161	664	657	650	643	637	630	623	616	610	603	596	589
162	669	662	655	648	642	635	628	621	615	608	601	594
163	674	667	660	653	647	640	633	626	620	613	606	599
164	679	672	665	658	652	645	638	631	625	618	611	604
165	684	677	670	663	657	650	643	636	630	623	616	609
166	689	692	675	668	662	655	648	641	635	628	621	614
167	694	687	680	673	667	660	657	646	640	633	626	619
168	699	692	685	678	672	665	658	651	645	638	631	624
169	704	697	690	683	677	670	663	656	650	643	635	629
170	709	702	695	688	682	675	668	661	655	648	641	634
171	714	707	700	693	687	680	673	666	660	653	645	639
172	719	712	715	698	692	685	678	671	665	658	651	644
173	724	717	710	703	697	690	683	676	670	663	656	649
174	729	722	715	708	702	695	688	681	675	668	661	654
175	734	727	720	713	707	700	693	686	680	673	666	659
176	739	732	725	718	712	705	698	691	685	678	671	664
177	744	737	730	723	717	710	703	696	690	683	676	669
178	749	742	735	728	722	715	708	701	695	688	681	674
178	754	747	740	733	727	720	713	706	700	693	686	679
179	759	752	745	738	732	725	718	715	705	698	691	684
180	764	757	750	743	737	730	723	716	710	703	696	689
182	769	772	755	748	742	735	728	721	715	708	701	694
183	774	767	760	753	747	740	733	726	720	713	706	699
184	779	772	765	758	752	745	738	731	725	718	711	704
185	784	777	770	763	757	750	743	736	730	723	716	709
186	789	782	775	768	762	655	748	741	735	728	721	714
187	794	787	780	773	767	760	753	746	740	733	726	719
188	799	792	785	779	772	765	758	751	745	738	731	724
189	804	797	790	784	777	770	763	756	750	743	736	729
190	809	802	795	789	782	775	768	761	755	748	741	734
191	814	807	800	794	787	780	773	766	760	753	746	739
192	819	812	809	799	792	785	778	771	765	758	751	744
193	824	817	810	804	797	790	783	776	770	763	756	749
194	829	822	815	809	802	795	788	781	775	768	761	754
195	834	827	820	814	807	800	793	787	780	773	766	759
196	839	832	825	819	812	805	798	792	785	778	771	764
197	844	837	830	824	817	810	803	797	790	783	776	769
198	849	842	835	829	822	815	808	802	795	788	781	774

TABELUL Nr.5

Valorile standard ale metabolismului bazal pe 24 ore după Harris şi Benedict.

Sexul feminin : valori bazate pe greutate.

kg	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
45	1o85	1o86	1o87	1o88	1o89	1o9o	1o91	1o92	1o93	1o94
46	1o95	1o96	1o97	1o98	1o99	11oo	11o1	11o2	11o3	11o4
47	11o5	11o6	11o6	11o7	11o8	11o9	111o	1111	1112	1113
48	1114	1115	1116	1117	1118	1119	112o	1121	1122	1123
49	1124	1125	1126	1127	1128	1129	113o	113o	1131	1132
5o	1133	1134	1135	1136	1137	1138	1139	114o	1141	1142
51	1143	1144	1145	1146	1147	1148	1149	115o	115o	1151
52	1152	1153	1154	1155	1156	1157	1158	1159	116o	1161
53	1162	1163	1164	1165	1166	1167	1168	1169	117o	1171
54	1172	1172	1173	1174	1175	1176	1177	1178	1179	118o
55	1181	1182	1183	1184	1185	1186	1187	1188	1189	119o
56	1191	1192	1193	1194	1194	1195	1196	1197	1198	1199
57	1200	1201	1202	1203	1204	1205	1206	1207	1208	1209
58	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216	1216	1217	1218
59	1219	1220	1221	1222	1223	1224	1225	1226	1227	1228
6o	1229	123o	1231	1232	1233	1234	1235	1236	1237	1238
61	1238	1239	124o	1241	1242	1243	1244	1245	1246	1247
62	1248	1249	125o	1251	1252	1253	1254	1255	1256	1257
63	1258	1259	126o	126o	1261	1262	1263	1264	1265	1266
64	1267	1268	1269	127o	1271	1272	1273	1274	1275	1276
65	1277	1218	1279	128o	1281	1281	1282	1283	1284	1285
66	1286	1287	1288	1289	129o	1291	1292	1293	1294	1295
67	1296	1297	1298	1299	13oo	13o1	13o2	13o3	13o3	13o4
68	13o5	1306	13o7	13o8	13o9	131o	1311	1312	1313	1314
69	1315	1316	1317	1318	1319	132o	1321	1322	1323	1324
7o	1325	1325	1326	1327	1328	1329	133o	1331	1332	1333
71	1334	1335	1336	1337	1338	1339	134o	1341	1342	1343
72	1344	1345	1346	1347	1347	1348	1349	135o	1351	1352
73	1353	1354	1355	1356	1357	1358	1359	136o	1361	1362
74	1363	1364	1365	1366	1367	1368	1369	1369	137o	1371
75	1372	1373	1374	1375	1376	1377	1378	1379	138o	1381
76	1382	1383	1384	1385	1386	1387	1388	1389	139o	1391
77	1391	1392	1393	1394	1395	1396	1397	1398	1399	14oo
78	14o1	14o2	14o3	14o4	14o5	14o6	14o7	14o8	14o9	141o
79	1411	1412	1413	1413	1414	1415	1416	1417	1418	1419
8o	142o	1421	1422	1423	1424	1425	1426	1427	1428	1429
81	143o	1431	1432	1433	1434	1435	1435	1436	1437	1438
82	1439	144o	1441	1442	1443	1444	1445	1446	1447	1448
83	1449	145o	1451	1452	1453	1454	1455	1456	1456	1457
84	1458	1459	146o	1461	1462	1463	1464	1465	1466	1467
85	1468	1469	147o	1471	1472	1473	1474	1475	1476	1477
86	1478	1479	1479	148o	1481	1482	1483	1484	1485	1486
87	1487	1488	1489	149o	1491	1492	1493	1494	1495	1496
88	1497	1498	1499	15oo	15o1	15o1	15o2	15o3	15o4	15o5
89	15o6	15o7	15o8	15o9	151o	1511	1512	1513	1514	1515
9o	1516	1517	1518	1519	152o	1521	1522	1522	1523	1524

TABELUL Nr.6

Sexul feminesc : valori bazate pe vîrstă şi înălţime

cm.	Ani											
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	3o	31	32
151	181	176	172	167	162	158	153	148	144	139	134	13o
152	183	178	174	169	164	16o	155	15o	146	141	136	132
153	185	18o	175	171	166	161	157	152	147	143	138	133
154	187	182	177	173	168	163	159	154	149	145	14o	135
155	189	184	179	174	17o	165	16o	156	151	146	142	137
156	19o	186	181	176	172	167	162	158	153	148	144	139
157	192	188	183	178	173	169	164	159	155	15o	145	141
158	194	189	185	18o	175	171	166	161	157	152	147	143
159	196	191	187	182	177	173	168	163	158	154	149	144
16o	198	193	188	184	179	174	17o	165	16o	156	151	146
161	199	195	19o	186	181	176	172	167	162	158	153	148
162	2o1	197	192	187	183	178	173	169	164	159	155	15o
163	2o3	199	194	189	185	18o	175	171	166	161	157	152
164	2o5	2oo	196	191	186	182	177	172	168	163	158	154
165	2o7	2o2	198	193	188	184	179	174	17o	165	16o	156
166	2o9	2o4	199	194	19o	185	181	176	171	167	162	157
167	211	2o6	2o1	197	192	187	184	178	173	169	164	159
168	213	2o8	2o3	199	194	189	184	18o	175	17o	166	161
169	214	21o	2o5	2oo	196	191	186	182	177	172	168	163
17o	216	212	2o7	2o2	198	193	188	184	179	174	169	165
171	218	213	2o9	2o4	199	195	19o	185	181	176	171	167
172	22o	215	211	2o6	2o1	197	192	187	183	178	173	169
173	222	217	212	2o8	2o3	198	194	189	184	18o	175	17o
174	224	219	214	21o	2o5	2oo	196	191	186	182	177	172
175	225	221	216	211	2o7	2o2	197	193	188	183	179	174
176	227	223	218	213	2o9	2o4	199	195	19o	185	181	176
177	229	225	22o	215	21o	2o6	2o1	196	192	187	182	178
178	231	226	222	217	212	2o8	2o3	198	194	189	184	18o
179	233	228	224	219	214	21o	2o5	2oo	195	191	186	181
18o	235	23o	225	221	216	211	2o7	2o2	197	193	188	183
181	237	232	227	223	218	213	2o9	2o4	199	195	19o	185
182	238	234	229	224	22o	215	2ao	2o6	2o1	196	192	187
183	24o	236	231	226	222	217	212	2o8	2o3	198	194	189
184	242	237	233	228	223	219	214	2o9	2o5	2oo	195	191
185	244	239	235	23o	225	221	216	211	2o7	2o2	197	193
186	246	241	236	232	227	222	218	213	2o8	2o4	199	194
187	248	243	238	234	229	224	22o	215	21o	2o6	2o1	196
188	25o	245	24o	236	231	226	221	217	212	2o7	2o3	198
189	251	247	242	237	233	228	223	219	214	2o9	2o5	2oo
19o	253	249	244	239	235	23o	225	221	216	211	2o6	2o2
191	255	25o	246	241	236	232	227	222	218	213	2o8	2o4
192	257	252	248	243	238	234	229	224	22o	215	21o	2o6
193	259	254	249	245	24o	235	231	226	221	217	212	2o7
194	261	256	251	247	242	237	233	228	223	219	214	2o9
195	262	258	253	248	244	239	234	23o	225	22o	216	211
196	264	26o	255	25o	246	241	236	232	227	222	218	213
197	266	262	257	252	247	243	238	233	229	224	219	215
198	268	263	259	254	249	245	24o	235	231	226	221	217
199	27o	265	261	256	251	247	242	237	232	228	223	218

BIBLIOGRAFIE

ANDREW,B.L.:Experimental Physiology.Churchill Livingstone-Edinburg London,1972.

BACIU,I.:Fiziologie. Ed.Did.Ped.Bucureşti, 1970

BERSON,S.A.,YALLOW,R.S.(Eds).Methods in investigative and diagnostic endocrinology.Vol 2 B P III.Non-Pituitary Hormones.North Holland publ.Comp.Amsterdam-London 1973

BEST,C.H.,TAYLOR,N.B.:The physiological basis of medical practice. The Williams and Wilkins Comp.Baltimore,Md. 1966

BILIBIN,D.P.,VETCINKINA,K.T.şi col.:Praktikum po fiziologhii (K.M. Kullanda Ed).Izd.Med.Moskwa 1970

CARARE,N.,ROTARU,C.:Lucrări practice de fiziologie IMF Iaşi 1975

COTRUT, M.:Lucrări practice la cursul de fiziologie a animalelor domestice.Ed.Did.Ped.Bucureşti 1965

DORFMAN.I.R.:Methods in hormone research. Vol II part A:Bioassay. Acad.Press N.Y.-London 1969

GROZA,P.:Fiziologie umană Ed. med.Bucureşti 1974

GUYTON,A.C.:Textbook of medical physiology.Saunders Comp. 1971

HOAR,W.,HICKMAN,C.:A laboratory companion for general and comparative physiology.Prentice-Hall Inc.Englewood Cliffs New Jersey 1967

HEFCO,V.:Fiziologie experimentală.Vol I şi Vol.II Iaşi 1975/1976

KIRSENBLAT,I.D.:Praktikum po endocrinologhii:Izd.Visşaia şkola Moskwa 1969

MANTA,I.,BENGA,G. şi col.:Metode biochimice în laboratorul clinic Dacia 1976

PORA,E.,ROASCA,D.,FARCASANU,V.:Tehnica pentru lucrări de fiziologie animală.Braşov Lit.Inv. 1955

ROTARU,C.:Fiziologie.Tehnici şi demonstraţii.Digestia Vol.I IMF Iaşi 1971.

SANTA,N.,JITARIU,P.:Fiziologia animalelor şi a omului.Ed.Did.Ped. Bucureşti 1970

ZARROW,M.X.,YOCHIM,J.M.,MCCARTHY,J.L.:Experimental endocrinology A sourcebook of basic techniques Acad.Press N.Y.-London 1964

Biblioteca Centrală Universitară
BIBLIOTHECA DE BIOLOGIE
Cota veche: Cmp.
Preţul: 8 Lei

BCU "ION CREANGĂ" LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Lei, 8[00]